

УДК 591.147.6/7:577.154.5:597.21.585

БИОХИМИЯ

Э. М. ПЛИСЕЦКАЯ, Л. Г. ЛЕЙБСОН

ВЛИЯНИЕ ГОРМОНОВ НА ГЛИКОГЕН-СИНТЕТАЗНУЮ АКТИВНОСТЬ ПЕЧЕНИ И МЫШЦ У МИНОГ И СКОРПЕН

(Представлено академиком Е. М. Крейсом 6 XII 1972)

С целью выяснения механизма действия инсулина и адреналина на углеводный обмен низших позвоночных животных нами были проведены опыты с введением им гормонов и эксперименты *in vitro* на изолированных мышцах миног (*Lampetra fluviatilis* L.) и морских ершей, или скорпен (*Scorpaena porcus* L.), а также на кусочках печени и гомогенатах мышц и печени этих животных (1-5).

Полученные результаты, а именно тот факт, что инсулин вызывает накопление гликогена в изолированных мышцах скорпен, проницаемость которых для сахаров полностью нарушена (4), и что адреналин снижает содержание полисахарида в печени миног, не влияя существенным образом на активность гликоген-фосфорилазы (5), привели нас к предположению, что в этих и в ряде других случаев инсулин и адреналин осуществляют свое влияние, изменяя активность основного гликогенсинтезирующего фермента, гликоген-синтетазы (УДФ-глюкоза : гликоген- α -4-глюкозил-трансферазы, НФ 2.4.1.11).

Гормональная регуляция активности этого фермента у млекопитающих и амфибий установлена (6-9). В существующей литературе нет, однако, данных, касающихся влияния гормонов на гликоген-синтетазную активность органов у рыб. Опубликовано лишь несколько работ, в которых определен уровень гликоген-синтетазной активности печени, красных и белых мышц рыб без каких-либо воздействий (10-12). Сведения о гликоген-синтетазной активности органов круглоротых отсутствуют полностью.

Задачей настоящей работы было изучение влияния инсулина и адреналина на гликоген-синтетазную активность мышц и печени у миног и скорпен и тем самым проверка высказанного выше предположения о механизме действия названных гормонов у представителей круглоротых и рыб.

Опыты на миногах проведены нами в феврале — марте в г. Ленинграде, на скорпенах — в июне в г. Севастополе, в Институте биологии южных морей Академии наук УССР. Экспериментальные объекты и методика постановки опытов с кусочками печени и изолированными мышцами описаны в наших прежних работах (2-5, 13). Кусочки печени, изолированные мышцы глоточного аппарата миноги, *m. m. cardioapicales* и *m. m. annuloglossi* и плавника скорпены, *m. m. adductores superficiales* помещали в парные сосудики, один из которых содержал сбалансированный солевой раствор с глюкозой, а в другой добавляли гормон. *M. m. annuloglossi* и *m. m. adductores superficiales* представляют собой парные мышцы, а *m. cardioapicalis*, как одиночную, разрезали вдоль и каждую половинку помещали в один из парных сосудиков.

Адреналин, кристаллический препарат фирмы «Serva», разводили в 0,01 N HCl до концентрации 1 мг/мл. Кристаллический инсулин млекопитающих производства Ленинградского мясокомбината (24 ед/мг) растворяли в 0,6% уксусной кислоте до концентрации 40 ед/мл. Концентрация

инсулина в сосудах составляла 100 мед/мл, адреналина 20 мкг/мл. Время действия гормонов указано в табл. 1. Опыты проводили при комнатной температуре (19–23°).

Печень и мышцы гомогенизировали при 0° в пяти- и десятикратном объеме раствора 0,88 М сахарозы с 0,001 М ЭДТА. Определения активности гликоген-синтетазы осуществляли в экстракте после центрифугирования гомогената в течение 10 мин. при 1900 г и 0°*.

Анализы проводили в основном по методике Понтиса и Лелюара (14) с некоторыми небольшими изменениями в составе инкубационной среды. Последняя состояла при определении активной (I) формы фермента из 0,05 М трис-буфера, 1% гликогена, 0,001 М ЭДТА, 0,004 М цистеина и 0,003 М УДФГ; pH 7,8; для определения общей гликоген-синтетазной активности к инкубационной среде добавляли 0,001 М Г-6-Ф.

Таблица 1

Влияние инсулина (100 мед/мл) и адреналина (20 мкг/мл) на гликоген-синтетазную активность в скелетных мышцах и печени много и скорпен

Объект	Число пар сосудов	Число мышц или кусочков печени	Гормон	Время действия гормона, мин.	Активность гликоген-синтетазы (μМол/100 мг·10 мин) при 37°	
					I	I + D
Многога m. annuloglossi m. cardioapicalis	6	23	—	270	0,20±0,02	0,54±0,04
	6	23	Инсулин		0,47±0,04 <i>p</i> < 0,001	0,64±0,06 0,62±0,03
	5	20 20	Адреналин	210	0,22±0,01 0,12±0,04 <i>p</i> < 0,05	0,39±0,05 <i>p</i> < 0,01
Скорпена m. adductor superficialis	10	10 10	— Инсулин	90	0,18±0,03 0,36±0,04 <i>p</i> < 0,002	0,59±0,06 0,62±0,05
	5	5 5	— Адреналин	40	0,41±0,10 0,19±0,05 <i>p</i> < 0,05	0,76±0,08 0,79±0,02
Многога Печень	8	24 24	— Инсулин	285	0,12±0,02 0,19±0,02 <i>p</i> < 0,05	0,17±0,02 0,22±0,03
	6	15 18	— Адреналин	210	0,16±0,03 0,07±0,02 <i>p</i> < 0,05	0,22±0,04 0,18±0,05
Скорпена Печень	5	5 5	— Инсулин	105	0,18±0,04 0,57±0,17 <i>p</i> < 0,05	0,46±0,07 0,83±0,15
	6	6 6	— Адреналин	40	0,29±0,01 0,15±0,04 <i>p</i> < 0,01	0,46±0,05 0,36±0,06

Стандартные кривые, построенные для эквимоллярных количеств УДФ и пирувата, совпадали, так что полученные результаты могли быть выражены либо в μмолях УДФ, либо в μмолях пирувата. Как показали специально проведенные определения, и для многог и для скорпен оптимальной температурой инкубации при выявлении активности гликоген-синтетазы является температура в 35–37°.

Прежде всего мы убедились, что активность исследуемого фермента в парных мышцах и кусочках одной и той же печени, без добавления гормона, оказывается практически одинаковой. Так, у скорпен активность

* За предоставление реактивов для определения активности гликоген-синтетазы мы искренне признательны профессору Ибаданского университета (Нигерия) Т. А. И. Грилло.

I-формы фермента в шести парах мышц составляла через 60 мин. после начала опыта $0,25 \pm 0,03$ и $0,24 \pm 0,04$, общая активность $0,64 \pm 0,07$ и $0,59 \pm 0,07$ μ молей пирувата на 100 мг. У разных особей наблюдались значительные индивидуальные колебания активности гликоген-синтетазы печени и мышц. За время нахождения в сосудиках в сбалансированном растворе активность фермента закономерно снижалась. Например, I-форма гликоген-синтетазы мышц скорпены при их удалении из организма составляла $0,47 \pm 0,06$ ($n=7$), через 40 мин. $0,35 \pm 0,10$ ($n=6$), через 60 и 90 мин. соответственно $0,25 \pm 0,03$ ($n=6$) и $0,18 \pm 0,03$ ($n=10$) μ молей пирувата на 100 мг. Точно так же снижалась и общая активность фермента. Принимая во внимание это обстоятельство, мы не делаем на основании наших данных заключений об уровне гликоген-синтетазной активности в органах, а только сравниваем уровни ферментативной активности мышц и печени, не подвергавшихся и подвергавшихся действию инсулина или адреналина в течение определенного промежутка времени.

Результаты этих опытов приведены в табл. 1. Поскольку гликоген-синтетазная активность *m. cardioapicalis* и *m. annuloglossi* оказалась очень близкой по величине, в табл. 1 эти группы мышц объединены. Из табл. 1 с очевидностью следует, что инсулин повышает гликоген-синтетазную активность печени и мышц, а адреналин ее снижает. Как правило, при действии гормонов изменяется активность I-формы фермента, в то время как общая активность остается прежней. В нескольких случаях мы, однако, обнаружили и изменения в общей активности фермента, однонаправленные с изменениями формы I.

Таким образом, адреналин и инсулин влияют на гликоген-синтетазную активность печени и мышц миног и скорпен так же, как у млекопитающих. Мы имеем, следовательно, основание полагать, что и в наблюдавшихся нами изменениях в содержании гликогена в органах, возникавших под влиянием инсулина и адреналина (⁴⁻⁵), существенную роль играет регулирующее влияние этих гормонов на активность гликоген-синтетазы.

Институт эволюционной физиологии
и биохимии им. И. М. Сеченова
Ленинград

Поступило
16 XI 1972

ЦИТИРОВАННАЯ ЛИТЕРАТУРА

- ¹ Л. Г. Лейбсон, Э. М. Плисецкая, Е. М. Стабровский, Физиол. журн. СССР, 49, № 5, 583 (1963). ² Э. М. Плисецкая, Л. Г. Лейбсон, Журн. эволюцион. биохим. и физиол., 2, 529, № 6 (1966). ³ L. G. Leibson, E. M. Plisetskaya, Gen. and Comp. Endocrinol., 11, № 2, 381 (1968). ⁴ Э. М. Плисецкая, Журн. эволюцион. биохим. и физиол., 6, № 6, 606 (1970). ⁵ Э. М. Плисецкая, Э. П. Желудкова, В кн.: Эволюция вегетативных функций, «Наука», 1971, стр. 175. ⁶ Е. Л. Розенфельд, В кн.: Химические факторы регуляции активности и биосинтеза ферментов. М., 1969, стр. 54. ⁷ C. Villar-Palasi, N. D. Goldberg et al. In: Metabolism regulation and enzyme action, London—N. Y., 1970, p. 149. ⁸ J. L. Albert, M. Rossel-Pérez, Rev. esp. fisiol., 26, № 2, 139 (1970). ⁹ L. M. Blatt, J. S. Sevall, K. H. Kim, J. Biol. Chem., 246, № 4, 873 (1971). ¹⁰ M. Rossel-Pérez, J. Larner, Biochemistry, 1, 769 (1967). ¹¹ F. K. Bokdawala, J. C. George, J. Anim. Morphol. Physiol., 14, № 1, 60 (1967). ¹² P. Ingram, Int. J. Biochem., 1, № 3, 263 (1970). ¹³ Э. М. Плисецкая, Журн. эволюцион. биохим. и физиол., 8, № 4, 447 (1972). ¹⁴ H. G. Pontis, L. F. Leloir, In: Methods of Biochemical Analysis, N. Y.—London, 10, 1962, p. 107.