

## ОБ АКТИВНОСТИ ГЕКСОКИНАЗЫ ЭРИТРОЦИТОВ И ВОЗДЕЙСТВИИ НА НЕЕ ИНСУЛИНА И КОРТИЗОНА

Л. КИЛЬДЕМА

Вопросу о влиянии гормонов на активность гексокиназы тканей посвящено не мало работ. Эта проблема приобрела особую актуальность после того, как в 1945—1947 гг. Кори и его сотрудники [16, 17, 12] показали, что экстракты передней доли гипофиза и коры надпочечников оказывают на гексокиназу тканевых экстрактов тормозящее действие, устраняемое инсулином. Первоначально эти данные не нашли подтверждения в опытах других авторов (Бро-Каан и Мирский [9], Смиidt [18], Стэди и соавторы [19, 20] и др.).

Более поздние исследования все же подтвердили воздействие указанных гормонов на скорость глюкокиназной реакции. Парк и Краль [14] установили, что введенные в организм экстракты передней доли гипофиза и коры надпочечников тормозят фосфорилирование и использование глюкозы изолированной диафрагмой гипофизэктомизированных и адреналэктомизированных крыс. Бронштейн и Парк [7] обнаружили в сыворотке аллоксан-диабетических животных фактор, тормозящий использование глюкозы, связанный с  $\beta$ -липопротеиновой фракцией сыворотки крови [13]. Это торможение устранялось инсулином. В сыворотке нормальных животных тормозящий фактор отсутствовал.

Головин и Сытинская [1] показали в условиях *in vitro* устранимое инсулином тормозящее влияние кортизона на активность почечной гексокиназы. Шаныгина [4, 5] обнаружила резкое снижение активности гексокиназы в экстрактах из печени здоровых кроликов, с аллоксановым диабетом и при голодании. Введение животным инсулина восстанавливало активность энзима почти до нормы.

Гексокиназа, как фермент с малой молярной мощностью, имеет существенное значение в регуляции скорости гликолитического процесса [3]. Поэтому гормональная регуляция ее активности имеет особенное значение для гликолитического расщепления углеводов. Гормональная регуляция активности гексокиназы изучалась главным образом на тканевых препаратах печени, мышц и некоторых других тканей, но с эритроцитами до сих пор проведено очень мало исследований. Уже в 30-х годах Лэви и его сотрудники изучали действие инсулина на углеводный обмен эритроцитов (цит. по [21]). Кристенсен и соавторы [11] исследовали влияние инсулина и экстрактов коры надпочечников на активность гексокиназы эритроцитов. Они не смогли показать влияния этих гормонов на гексокиназу гемолизатов у нормальных, а также аллоксан-диабетических и гипофизэктомизированных крыс. Басила и Бэррон [6] установили также отсутствие тормозящего действия корти-

зона на активность гексокиназы гемолизатов. Совершенно естественно, что на основе одних лишь отрицательных результатов, полученных в условиях *in vitro*, нельзя делать окончательного заключения о нечувствительности энзима эритроцитов к действию факторов гормональной регуляции. Так, например, хорошо известно, что попытки воспроизвести действие инсулина на активность гексокиназы печени в условиях *in vitro* до сих пор не увенчались успехом. В то же время, как уже упоминалось, введение в организм кортизона или инсулина оказывает резкое действие на активность этого энзима в экстрактах, полученных из печени нормальных, голодающих и аллоксан-диабетических животных [4, 5].

В настоящей работе изучалось действие инсулина и кортизон-ацетата как в условиях *in vitro*, так и *in vivo* на активность гексокиназы в гемолизатах и суспензиях красных кровяных шариков из крови нормальных, голодающих и аллоксан-диабетических кроликов.

### Методика

Активность гексокиназы определялась в эритроцитах кролика. Серия опытов была проведена также с эритроцитами голубей. Для стабилизации крови использовался ликвойд (Roche) в количестве 1 мг на 10 мл крови. Для определения активности гексокиназы эритроциты трижды отмывались 0,9%-ным раствором поваренной соли. Суспензия интактных эритроцитов изготовлялась в 0,9%-ном растворе поваренной соли в соотношении 1:2. Для гемолиза добавлялся равный объем ледяной дистиллированной воды с последующим охлаждением полученной смеси на льду в течение 15 минут. В 1 мл суспензии или гемолизата содержалось 0,33 мл эритроцитов. Для получения сравнимых результатов вводились поправки, учитывающие содержание гемоглобина в пробах. Гемоглобин определялся по Сали.

Для инкубации суспензии или гемолизата использовался раствор следующего состава:  $\text{NaHCO}_3$  — 0,049 М,  $\text{MgCl}_2$  — 0,024 М, АТФ — 0,0039 М,  $\text{NaF}$  — 0,049 М, глюкоза — 24 мг %, гемолизат или суспензия эритроцитов — 1,0 мл. Общий объем — 2,05 мл.

Инкубация проводилась при 37° в течение 1 часа. Активность гексокиназы измерялась по убыли глюкозы. Изменение содержания последней определялось до и после инкубации по Хагедорну и Иенсену (всегда в двух параллельных опытах). Для осаждения белков использовался гидрат окиси кадмия ( $\text{CdSO}_4 + \text{NaOH}$ ).

Аллоксановый диабет вызывался внутривенным введением 5%-ного водного раствора аллоксана.

Опыты на голодающих кроликах начинались после падения веса тела в среднем на 26% (20—38%), что происходило на 8—18-й день голодания.

В опытах *in vitro* инсулин добавлялся в количестве 1 ЕД на каждую пробу. Нормальным животным инсулин вводился по 3 и 5 ЕД на 1 кг веса. Животным с диабетом дозу инсулина удваивали. Голодающие кролики получали 2 ЕД инсулина на 1 кг веса.

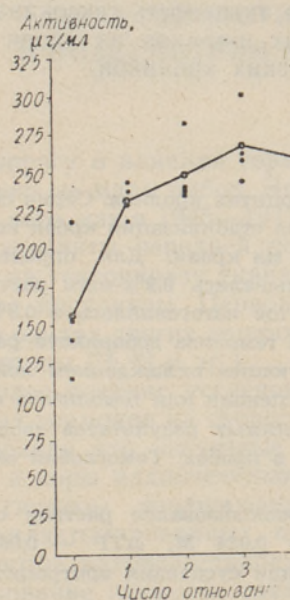
Кортизон-ацетат в опытах *in vitro* добавлялся в количестве 10 и 100 мкг. Для растворения его употребляли метиловый спирт или смесь глицерина и этилового спирта, а для стабилизации — 2%-ный раствор лактальбумина. Подопытным животным кортизон-ацетат вводился внутримышечно в дозах 5 и 10 мг на 1 кг веса.

Действие гормональных препаратов на активность гексокиназы крови исследовалось при применении инсулина спустя 1 час, а при применении кортизон-ацетата спустя 2 часа после введения их подопытным животным, так как предполагалось, что к этому времени гормоны уже оказали свое действие.

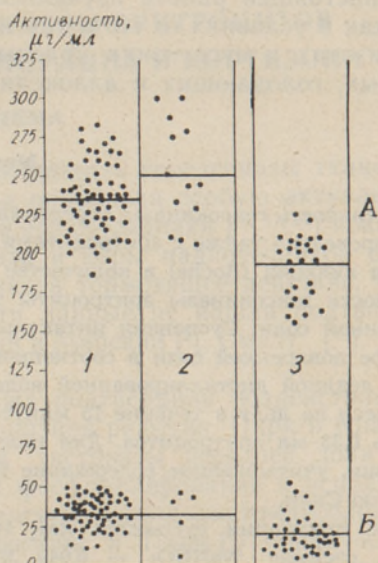
### Результаты опытов

Активность гексокиназы эритроцитов определялась на 79 здоровых кроликах (вес от 1,5 до 3,7 кг) и 39 голубях. Полученные данные обработаны вариационно-статистическим методом. В результате первых опытов установлено, что 3—4-кратное отмывание эритроцитов физиологическим раствором приводит к повышению активности фермента (фиг. 1).

Это наблюдение совпадает с данными Кристенсена и соавторов [11] и объясняется, по всей вероятности, наличием в плазме крови тормозящих гексокиназу влияний.



Фиг. 1. Изменение активности гексокиназы гемолизатов кролика в зависимости от отмывания эритроцитов.



Фиг. 2. Активность гексокиназы эритроцитов у здоровых животных: А — активность гексокиназы в гемолизате, В — то же в суспензии; 1 — кролики-самцы, 2 — кролики-самки, 3 — голуби. Средняя активность отмечена горизонтальной чертой.

Также было установлено, что активность гексокиназы в суспензиях эритроцитов существенно отличается от ее активности в гемолизате. Выяснено, что гексокиназная активность целых эритроцитов кролика составляет в среднем  $1/7$  от активности гемолизата, а у голубя — лишь  $1/10$  (фиг. 2). У человека это соотношение, по нашим предварительным данным, составляет  $1/3—1/4$ .

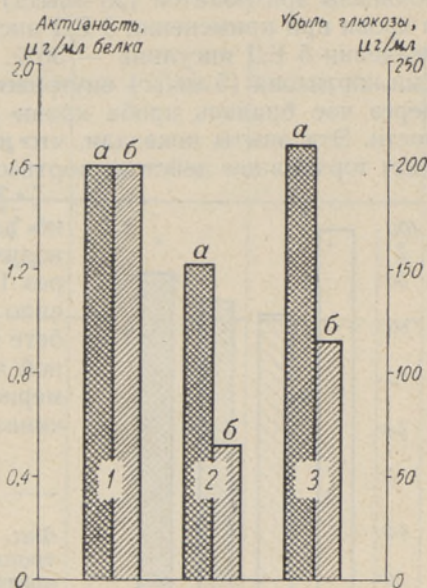
Обращает на себя внимание относительное расхождение индивидуальных показателей активности в суспензиях и гемолизатах (вариационный коэффициент у кролика в гемолизате — 10,8, в суспензии — 32,8; у голубя соответственно 11,1 и 58,3)\*. В большинстве случаев параллельно

\* Вариационный коэффициент показывает, сколько процентов от арифметического среднего составляет вариабельность  $(V = \frac{\sigma}{M} \cdot 100\%)$ .

лизма между величинами активности гексокиназы в гемолизатах и суспензиях целых клеток не наблюдалось. Ввиду того, что величины активности гексокиназы во взвеси целых эритроцитов оказались очень низкими, основные выводы о воздействии гормональных факторов делались на гемолизатах.

По гипотезе Вильбрандта (цит. по [8]), перенос глюкозы через мембрану эритроцита происходит при участии ферментов. Весьма возможно, что проникновение глюкозы в эритроцит связано с наличием гексокиназы, локализованной в мембране эритроцита. Действительно, удаление клеточной стромы центрифугированием гемолизатов (в течение 30 минут со скоростью 3000 об/мин.)

Фиг. 3. Активность гексокиназы в гемолизате без стромы и в строме (средние данные 8 опытов): а — активность гексокиназы, выраженная в  $\mu\text{г}$  на 1 мг белка, б — активность гексокиназы рассчитана на всю пробу; 1 — гемолизат, 2 — гемолизат без стромы, 3 — строма. Содержание белка в 1 мл гемолизата — 123,1 мг; в гемолизате без стромы — 91,4 мг, в строме — 136,8 мг.



приводило к снижению активности гексокиназы у кроликов в среднем на 26%, у голубей — на 34%.

На основании этих данных можно предположить, что гексокиназа эритроцитов в значительной степени связана частицами клеточной стромы. Это предположение подкрепляется сравнительными данными расчета активности гексокиназы в центрифугированном гемолизате и в выделенной центрифугированием клеточной строме (фиг. 3).

В этих опытах подсчет убыли глюкозы во время инкубации гемолизата голубя производился в расчете на 1 мг белка (содержание белка определялось по микрометоду Кьельдаля), а также в расчете на все количество белка в пробе, т. е. в строме и лишенном стромы гемолизате, полученных из 1 мл обычного гемолизата эритроцитов.

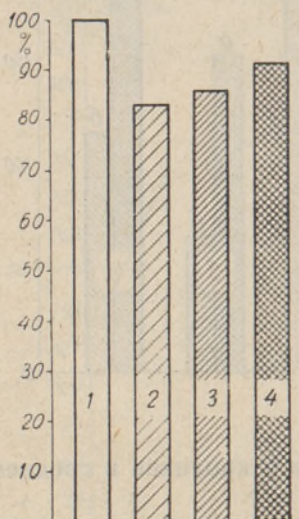
**Действие кортизона и инсулина на гексокиназу эритроцитов** исследовалось в суспензиях и гемолизатах в опытах *in vitro* и *in vivo*.

В опытах *in vitro* прибавление кортизон-ацетата к реакционной смеси не вызвало никаких изменений ферментной активности в гемолизатах и суспензиях эритроцитов. Инсулин так же, как и кортизон, не оказал действия на гексокиназную активность гемолизатов и суспензий эритроцитов. Таким образом, нам не удалось показать никакого воздействия этих гормональных препаратов на активность гексокиназы эритроцитов в опытах *in vitro*. Сделанное наблюдение согласуется с вышеупомянутыми литературными данными [18–20].

Однако при введении кортизон-ацетата внутримышечно отмечалось снижение активности гексокиназы. При дозе 5 мг на кг веса понижение активности гексокиназы гемолизатов через 2 часа после введения пре-

парата составило в среднем 17%, при 10 мг/кг — 15% (фиг. 4). Понижение активности фермента в суспензиях эритроцитов при дозе 5 мг/кг равнялось в среднем 5% и при 10 мг/кг — 15%.

После внутривенного введения одного инсулина в дозах 3 и 5 ЕД на 1 кг веса через 1 час не наблюдалось никаких изменений активности гексокиназы эритроцитов (23 опыта). При этом падение содержания сахара в крови при применении 3 ЕД инсулина составляло в среднем 24%, а при введении 5 ЕД инсулина — 36%. Пяти кроликам через час после инъекции кортизона (5 мг/кг) внутривенно вводился инсулин (5 ЕД/кг), и еще через час бралась проба крови для определения гексокиназной активности. Эти опыты показали, что инсулин в таких условиях частично снимает тормозящее действие кортизона на активность гексокиназы (фиг. 4).



У кроликов, которым вводили внутривенно аллоксан в виде 5%-ного раствора в количестве от 100 до 150 мг на 1 кг веса, через 10 дней содержание сахара в крови составило 181—527 мг%. При аллоксановом диабете было установлено снижение гексокиназной активности гемолизатов (фиг. 5). Примерно такое же снижение активности гексокиназы гемолизатов отмечалось у голодаю-

Фиг. 4. Сдвиги активности гексокиназы эритроцитов в гемолизате при введении кроликам кортизон-ацетата и кортизон-ацетата с инсулином: 1 — контроль; 2 — снижение активности через 2 часа после введения кортизон-ацетата (5 мг/кг); 3 — то же (10 мг/кг); 4 — активность при введении кортизон-ацетата (5 мг/кг) с последующим введением 5 ЕД инсулина на 1 кг веса.

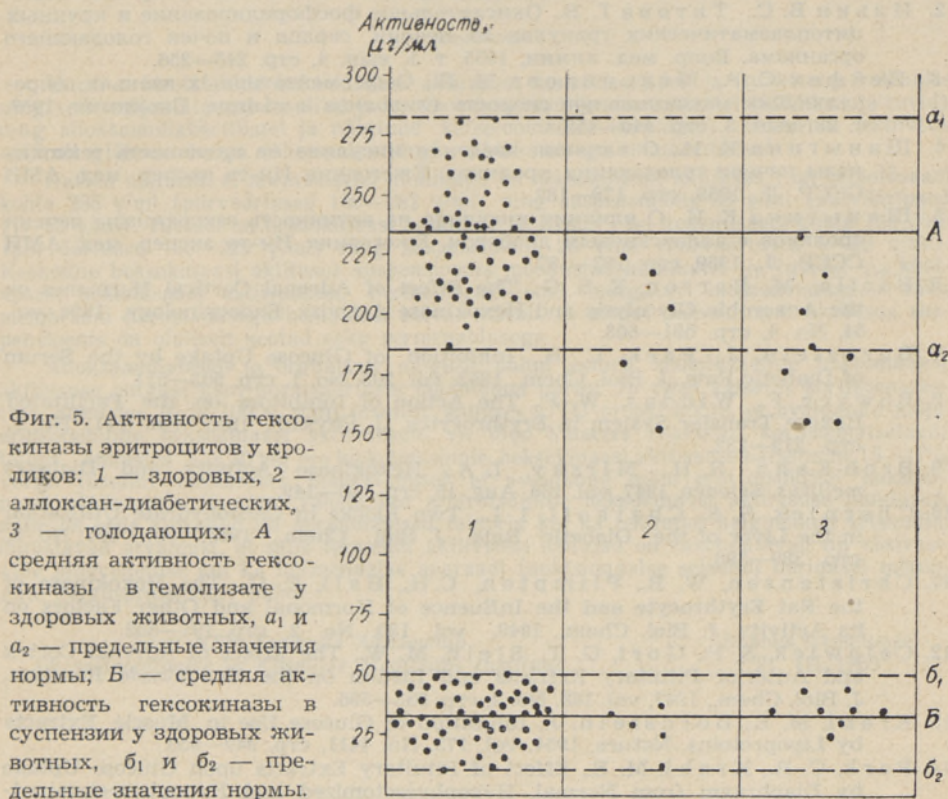
щих кроликов (снижение веса в среднем на 26%) (фиг. 5). Эти данные соответствуют сделанным другими авторами наблюдениям о том, что при аллоксановом диабете и голодании происходит снижение гексокиназной активности в тканях ([10, 16, 2] и др.).

В опытах с введением кортизон-ацетата (5 мг/кг) и инсулина аллоксан-диабетическим (10 ЕД инсулина на 1 кг веса) и голодающим (2 ЕД инсулина на 1 кг веса) кроликам было обнаружено только воздействие кортизона на активность гексокиназы эритроцитов. При этом у аллоксан-диабетических животных тормозящее действие кортизон-ацетата составило в среднем 6—7%.

Однократное введение инсулина кроликам с аллоксан-диабетом и при голодании не изменило активности гексокиназы эритроцитов. В связи с этим следует упомянуть недавно опубликованные данные Шаныгиной [4, 5], из которых видно, что инсулин восстанавливает активность гексокиназы печени животных с аллоксановым диабетом лишь после длительного и многократного введения.

Как уже отмечено, нами было обнаружено неравномерное распределение активности гексокиназы в эритроцитах. Большая часть ее связана, по-видимому, со стромой. Очевидно, что такая локализация гексокиназы в эритроцитах связана с возможностью активного проникновения глюкозы в красную кровяную клетку. Можно предполагать, что кортизон, тормозя активность гексокиназы эритроцитов, снижает проницаемость

клеточной мембраны, приводя к ослаблению способности глюкозы проникать в красные кровяные шарики, как это было установлено Плетчером и соавторами [15].



Фиг. 5. Активность гексокиназы эритроцитов у кроликов: 1 — здоровых, 2 — аллоксан-диабетических, 3 — голодающих; А — средняя активность гексокиназы в гемолизате у здоровых животных, а<sub>1</sub> и а<sub>2</sub> — предельные значения нормы; Б — средняя активность гексокиназы в суспензии у здоровых животных, б<sub>1</sub> и б<sub>2</sub> — предельные значения нормы.

### Выводы

1. Активность гексокиназы интактных эритроцитов у кроликов в 7, а у голубей в 10 раз ниже, чем гексокиназы охлажденного гемолизата.

2. Активность гексокиназы гемолизата кролика возрастает при отмывании эритроцитов в физиологическом растворе поваренной соли. Максимальная активность достигается после 2—3-кратного отмывания.

3. Большая часть активности гексокиназы связана со стромой эритроцитов.

4. Инсулин и кортизон-ацетат не оказывают воздействия на активность гексокиназы в условиях *in vitro*.

5. *In vivo* кортизон-ацетат умеренно тормозит активность гексокиназы эритроцитов кролика (в гемолизате в среднем на 15—17%). При однократном введении инсулин не оказывает воздействия на активность гексокиназы эритроцитов.

6. При аллоксановом диабете и голодании у кроликов наблюдается резкое снижение активности гексокиназы эритроцитов.

## ЛИТЕРАТУРА

1. Головин Б. П., Сытинская О. Н., Стероидные гормоны и активность почечной гексокиназы. *Вопр. мед. химии*, 1959, т. 5, вып. 5, стр. 348—352.
2. Ильин В. С., Титова Г. В., Окислительное фосфорилирование в крупных цитоплазматических гранулах из печени, сердца и почек голодающего организма. *Вопр. мед. химии*, 1955, т. 1, вып. 4, стр. 245—256.
3. Нейфах С. А., Мельникова М. П., О ферментативных звеньях, определяющих максимальную скорость гликолиза в мышце. *Биохимия*, 1958, т. 23, вып. 3, стр. 440—452.
4. Шаньгина К. И., О влиянии введения инсулина на активность гексокиназы печени голодающих кроликов. *Ежегодник Ин-та exper. мед. АМН СССР*, Л., 1959, стр. 179—182.
5. Шаньгина К. И., О влиянии инсулина на активность гексокиназы печени кроликов с аллоксановым диабетом. *Ежегодник Ин-та exper. мед. АМН СССР*, Л., 1959, стр. 183—187.
6. Vacila, M., Barron, E. S. G., The Effect of Adrenal Cortical Hormones on the Anaerobic Glycolysis and Hexokinase Activity. *Endocrinology*, 1954, vol. 54, No. 4, стр. 591—603.
7. Bornstein, J., Park, C. R., Inhibition of Glucose Uptake by the Serum of Diabetic Rats. *J. Biol. Chem.*, 1953, vol. 205, No. 1, стр. 503—511.
8. Bowyer, F., Widdas, W. F., The Action of Inhibitors on the Facilitated Hexose Transfer System in Erythrocytes. *J. Physiol.*, 1958, vol. 141, No. 1, стр. 219—232.
9. Broh-Kahn, R. H., Mirsky, I. A., Hexokinase Activity and *Diabetes mellitus*. *Science*, 1947, vol. 106, Aug. 15, стр. 148—149.
10. Chernick, S. S., Chaikoff, I. L., Two Blocks in Carbohydrate Utilization in the Liver of the Diabetic Rats. *J. Biol. Chem.*, 1951, vol. 188, No. 1, стр. 389—396.
11. Christensen, W. R., Plimpton, C. H., Ball, E. G., The Hexokinase of the Rat Erythrocyte and the Influence of Hormonal and Other Factors on Its Activity. *J. Biol. Chem.*, 1949, vol. 180, No. 2, стр. 791—802.
12. Colowick, S. P., Gori, G. T., Slein, M. W., The Effect of Adrenal Cortex and Anterior Pituitary Extracts and Insulin on the Hexokinase Reaction. *J. Biol. Chem.*, 1947, vol. 168, No. 2, стр. 533—596.
13. Krahl, M. E., Bornstein, J., Inhibition of Glucose Use in Muscle Extracts by Lipoproteins. *Nature*, 1954, vol. 173, No. 4411, стр. 949—950.
14. Park, C. R., Krahl, M. E., Effect of Pituitary Extracts upon Glucose Uptake by Diaphragm from Normal, Hypophysectomized and Hypophysectomized-adrenalectomized Rats. *J. Biol. Chem.*, 1949, vol. 181, No. 1, стр. 247—251.
15. Pletscher, A., Planta, P., Hunziger, W. A., Beeinflussung der Fructose- und Glycosepermeabilität von Erythrozyten durch Temperatur, Cortison und Insulin. Zum Kohlenhydratstoffwechsel, VII. *Helv. Physiol. et Pharmacol. Acta*, 1955, 13, No. 1, стр. 18—24.
16. Price, W. H., Gori, C. T., Colowick, S. P., The Effect of Anterior Pituitary Extract and of Insulin on the Hexokinase Reaction. *J. Biol. Chem.*, 1945, vol. 160, No. 2, стр. 633—634.
17. Price, W. H., Slein, W. M., Colowick, S. P., Gori, C. T., Effect of Adrenal Cortex Extract on the Hexokinase Reaction. *Federat. Proc.*, 1946, vol. 5, стр. 150.
18. Smith, R. H., The Influence of Insulin and Anterior Pituitary Factors on the Hexokinase Activity of Animal Tissue Extracts. *Biochem. J.*, 1949, vol. 44, No. 4, стр. XIII.
19. Stadie, W. C., Haugaard, N., The Hexokinase Reaction in Tissue Extracts from Normal and Diabetic Rats. *J. Biol. Chem.*, 1949, vol. 177, No. 1, стр. 311—324.
20. Stadie, W. C., Haugaard, N., Hills, A. G., The Effect of Insulin and Adrenal Cortical Extract on the Hexokinase Reaction in Extracts of Muscle from Depancreatized Cats. *J. Biol. Chem.*, 1950, vol. 184, No. 2, стр. 617—626.
21. Weil-Malherbe, H., The Mechanism of Action of Insulin. *Ergebn. Physiol.*, 1955, Bd. 48, стр. 54—111.

## ERÜTROTSÜÜTIDE HEKSOKINAASI AKTIIVSUSEST NING SELLE MÖJUSTAMISEST INSULIINI JA KORTISOONIGA

L. Kildema

Resümee

Uuriti erütrotsüütide heksokinaasi aktiivsust hemolüsaatides ja intaktsetes rakkudes ning selle mõjustatavust insuliini ja kortisoonatsetaadiga normaalsetel (küülikud ja tuvid) ning alloksaandiabeetilistel ja nälginud katseloomadel (küülikud). Fermendi aktiivsus määrati glükoosi hulga vähenemise järgi reaktsioonisegu inkubeerimisel.

Katsed näitasid, et normaalsetel küülikutel on heksokinaasi aktiivsus 1 ml hemolüsaadi kohta 235  $\gamma$ /ml (piirväärtused 186—282  $\gamma$ /ml) ning suspensioonis 33  $\gamma$ /ml (piirväärtused 11—55  $\gamma$ /ml). Tuvidel on heksokinaasi keskmine aktiivsus 1 ml hemolüsaadi kohta 193  $\gamma$ /ml (piirväärtused 156—229  $\gamma$ /ml) ning suspensioonis 20  $\gamma$ /ml (piirväärtused 5—52  $\gamma$ /ml). Keskmine heksokinaasi aktiivsus suspensioonis moodustab küülikutel  $\frac{1}{7}$ , tuvidel  $\frac{1}{10}$  keskmisest hemolüsaadi aktiivsusest. Fermentreaktsiooni märgatav intensiivistumine raku membraani purustamisega hemolüüsi korral näitab, et madal heksokinaasi aktiivsus suspensioonis on oluliselt seotud raku permeaablusega.

Alloksaandiabeedi ja organismi nälguse puhul esineb hemolüsaatide heksokinaasi aktiivsuse langust kuni normväärtuste madalaima piirini. *In vitro* katsetes kortisoonatsetaat, annustes 10 ja 100  $\gamma$ , ning insuliin, annuses 1 TU proovi kohta, ei avaldanud mõju erütrotsüütide heksokinaasi aktiivsusele. *In vivo* katsetes saavutati kortisoonatsetaadi toimel, annustes 5 ja 10 mg pro kg kehakaalule, heksokinaasi aktiivsuse pärssimine 15—17% võrra. Insuliin ühekordsel manustamisel ei avaldanud mõju erütrotsüütide heksokinaasi aktiivsusele *in vivo*. Täheldatud erütrotsüütide heksokinaasi aktiivsuse muutused, mille on esile kutsunud nii hormonaalsed faktorid kui ka tekitatud haiguslikud seisundid, õigustavad arvamust, et selle fermendi aktiivsuse näitajad on rakendatavad nii süsivesikute ainevahetuse kui ka hormonaalse aparadi funktsionaalse seisundi uurimisel mõningate haigusprotsesside puhul.

Eesti NSV Teaduste Akadeemia  
Eksperimentaalse ja Kliinilise Meditsiini Instituut

Saabus toimetusse  
21. III 1960

## ON THE ACTIVITY OF HEXOKINASE OF ERYTHROCYTES ON TREATING WITH INSULIN AND CORTISONE

L. Kildema

Summary

Tests were carried out on the activity of hexokinase of erythrocytes in hemolysates and intact red cells and on its treating with insulin and cortisone acetate, in normal (rabbits and pigeons) and alloxan diabetic and starved animals (rabbits). The activity of enzyme was determined according to the decrease of glucose on the incubation of the reaction mixture.

The tests have shown that in normal rabbits the activity of hexokinase is 235  $\gamma$ /ml per 1 ml of hemolysate (limit values 186—282  $\gamma$ /ml) and in suspension — 33  $\gamma$ /ml (limit values 11—55  $\gamma$ /ml). With pigeons the activity of hexokinase is, on the average, 193  $\gamma$ /ml per 1 ml of hemolysate (limit values 156—229  $\gamma$ /ml) and in suspension — 20  $\gamma$ /ml (limit values 5—52  $\gamma$ /ml). The average activity of hexokinase in suspension is  $\frac{1}{7}$  with rabbits and  $\frac{1}{10}$  with pigeons, of the average activity of hemolysates.

The considerable intensification of ferment reaction leading to the breaking of the membrane of the cell in the case of hemolysis shows that the lower activity of hexokinase in suspension is essentially connected with the permeability of the cell membrane.

In the case of alloxan diabetes and starving the activity of hexokinase of hemolysates decreases to the lower limit of the normal value. At tests *in vitro* the cortisone acetate at a dosage of 10 and 100  $\gamma$  and insulin at a dosage of 1 unit per test did not affect the



activity of hexokinase of erythrocytes. At tests *in vivo* with cortisone acetate at a dosage of 5 and 10 mg per 1 kg weight of the animal an inhibition of the activity of hexokinase was achieved, by 15 to 17 per cent. One single application of insulin had no influence on the hexokinase of erythrocytes, either. The above-mentioned changes in the activity of hexokinase of erythrocytes caused by hormonal factors as well as by the pathological state called forth in the animals prove that the indicators of the activity of enzyme can be applied at investigating the metabolism of carbohydrates and the functioning of the hormonal apparatus in case of some pathological processes.

Academy of Sciences of the Estonian S.S.R.,  
Institute of Experimental and Clinical Medicine

Received  
March 21st, 1960