

УДК 577.152:611.018.8

ВЛИЯНИЕ ТИРЕОИДНЫХ ГОРМОНОВ И НЕКОТОРЫХ КОРТИКОСТЕРОИДОВ НА АМФ-АМИНОГИДРОЛАЗНУЮ АКТИВНОСТЬ МОЗГА

Э. А. ГУЛЯН, Г. П. КЕГИШЯН, А. В. АРУТЮНЯН, В. С. ОГАНЕСЯН

Выяснено, что АМФ-аминогидролаза как митохондриальной, так и растворимой фракций головного мозга крыс подвержена действию тиреоидных гормонов. Наиболее эффективным активатором фермента является трийодтиронин. В присутствии различных активаторов АМФ-аминогидролазы (АТФ, ГК и одновалентные катионы) эффект тиреоидных гормонов не проявляется. Кортикостероиды не влияют на процесс деаминации АМФ.

Гормональная регуляция активности ферментов осуществляется множеством путей. Одним из механизмов влияния гормонов на активность ферментов является изменение конформации последних под непосредственным воздействием гормонов.

Из всех образующихся в животном организме гормонов тиреоидные обладают наиболее широким спектром действия. Изучая процессы деаминации глутамина в мозговой ткани, Оганесян и сотр. обнаружили [1—3], что тироксин оказывает сильное активирующее действие на глутаминазу. Было показано также, что кортикостероиды, не оказывая сами по себе влияния на глутаминазную активность мозга, несколько подавляют эффект тироксина [4].

Известно, что при аммиакообразовании в мозге, наряду с деаминацией глутамина, немаловажную роль играет процесс образования аммиака из АМФ, катализируемый АМФ-аминогидролазой (КФ 3. 5. 4. 6) [5—8]. АМФ-аминогидролаза, так же как и глутаминаза мозга, обладает слабой каталитической активностью в отсутствие активаторов, которая резко возрастает при наличии различных низкомолекулярных соединений (АТФ, АДФ, соли одновалентных металлов и т. д.). Характерно, что регуляция обоих ферментов носит сложный поливалентный характер.

Влияние гормонов на активность АМФ-аминогидролазы мозга и других органов не изучено. В настоящей статье приводятся результаты изучения действия тиреоидных гормонов и некоторых кортикостероидов на АМФ-аминогидролазную активность митохондриальной и растворимой фракций мозга крыс.

Материал и методика. Опыты были поставлены на белых крысах обоего пола весом 160—200 г. Животных декапитировали, быстро извлекали мозг и переносили в

стакан с охлажденной дистиллированной водой. Мозг очищали от оболочек и сосудов и гомогенизировали в 9 объемах 0,25 М сахарозы при 5 000 об/мин. Полученный гомогенат центрифугировали в течение 15 мин при 800 г для осаждения ядер, затем— 30 мин при 18 000 г для осаждения митохондрий. АМФ-аминогидролазную активность определяли по присесту аммиака при 30-минутной инкубации при 37° митохондриальной или растворимой фракций мозга крыс с АМФ. Инкубационная среда содержала: 5 мкм АМФ, 5 мкм АТФ, 0,5 мг кристаллической дрожжевой гексокиназы (Type III, Sigma), 50 мкмоль трис-НСl буфера, рН 7,4, 0,4 мл митохондриальной или 0,6 мл растворимой фракции мозга (что соответствует 100 мг и 60 мг ткани соответственно) и в зависимости от поставленной задачи различные гормоны или их производные: L-тироксин (Reanal), 3,3',5'-трийод-L-тиронин (Sigma), 3,5-дйод-L-тиронин (Sigma), 3,3',5'-трийодтиреоуксусная кислота (Sigma), 3-йод-L-тирозин (Sigma) и J₂. В отдельных опытах использовали кортизон или гидрокортизонацетат (Sigma). Общий объем инкубационной смеси—1,5 мл.

Аммиак определяли микродиффузионным способом [9], АМФ-аминогидролазную активность выражали в мкг аммиака на пробу.

Результаты и обсуждение. В табл. I приведены данные, иллюстрирующие влияние тиреоидных гормонов и некоторых их производных на процесс образования аммиака из АМФ в мозговой ткани. Ранее нами были выявлены определенные различия в регуляции АМФ-аминогидролазной активности в растворимой и митохондриальной фракциях мозга [10]. В связи с этим мы изучали действие тиреоидных гормонов и их аналогов на процесс деаминирования АМФ в обеих фракциях.

Из той же таблицы следует, что трийодтиронин и трийодтиреоуксусная кислота в концентрации 0,2 мкмоль на пробу вызывают значительное активирование АМФ-аминогидролазы (на 140—150%). Тироксин в той же концентрации повышает продуцирование аммиака из АМФ всего лишь на 30—35% (7,3—10,0 мкг аммиака на пробу), а дйодтиронин и монойодтирозин никакого воздействия на этот процесс не оказывают. При дальнейшем повышении концентрации трийодтиронина до 0,4 мкмоль на пробу отмечается понижение активирующего эффекта.

Такая же закономерность наблюдается в отношении АМФ-аминогидролазы митохондриальной фракции мозга крыс (табл. 1).

Полученные данные указывают на то, что в отличие от действия ряда активаторов АМФ-аминогидролазы (АТФ, гексокиназа, одновалентные катионы и т. д.) трийодтиронин и трийодтиреоуксусная кислота оказывают одинаковое влияние на активность как растворимой, так и митохондриальной АМФ-аминогидролазы.

Наряду с действием таких продуктов дейодирования тиреоидных гормонов, как дйодтиронин и монойодтирозин, мы исследовали также влияние молекулярного йода на активность АМФ-аминогидролазы, так как известно, что в некоторых случаях он может имитировать эффект указанных гормонов на активность фермента [11].

Данные, приведенные в табл. 2, свидетельствуют о том, что йод в концентрации 0,1 мкмоль/проба не оказывает влияния на активность АМФ-аминогидролазы. Дальнейшее повышение концентраций йода (0,5—2,0 мкмоль/проба) приводит к резкому подавлению активности

Таблица 1

АМФ-аминогидролазная активность растворимой и митохондриальной фракций мозга крыс в присутствии тиреоидных гормонов и их производных, мкг аммиака/проба

Фракция	АМФ	Тироксин, мкмоль				Трийодтиронин, мкмоль				Дийодти- ронин, 0,2 мкмоль	Моноидти- ронин, 0,2 мкмоль	Трийодти- реоуксусная кислота, 0,2 мкмоль
		0,05	0,1	0,2	0,4	0,05	0,1	0,2	0,4			
Растворимая	$7,34 \pm 0,33$ n=16	$7,0 \pm 0,3$ n=8	$7,5 \pm 0,4$ n=8	$10,0 \pm 0,6$ n=8	$8,5 \pm 0,4$ n=6	$7,5 \pm 0,3$ n=8	$7,0 \pm 0,3$ n=8	$17,6 \pm 0,9$ n=12	$13,4 \pm 0,5$ n=6	$8,5 \pm 0,36$ n=6	$7,3 \pm 0,35$ n=6	$18,6 \pm 0,4$ n=8
Митохондриальная	$7,6 \pm 0,5$ n=15	$8,2 \pm 0,4$ n=6	$7,8 \pm 0,3$ n=6	$7,6 \pm 0,2$ n=8	$8,4 \pm 0,2$ n=6	$6,9 \pm 0,2$ n=6	$8,5 \pm 0,3$ n=8	$15,5 \pm 0,6$ n=8	$11,3 \pm 0,3$ n=6	$7,3 \pm 0,4$ n=6	$8,4 \pm 0,3$ n=6	$16,0 \pm 0,5$ n=8

изучаемого фермента (табл. 2). Так, например, если продукция аммиака из добавленного АМФ составляла $7,34 \pm 0,33$ мкг/проба, то в присутствии 0,5 или 2,0 мкмоль йода она понижалась до $1,1 \pm 0,04$ и $1,0 \pm 0,05$ мкг/проба соответственно. Ингибирование АМФ-аминогидролазной активности под влиянием йода, по всей вероятности, обусловлено

Таблица 2

Действие молекулярного йода на АМФ-аминогидролазную активность растворимой фракции мозга крыс, мкг аммиака/проба

АМФ	I ₂ , мкмоль		
	0,1	0,5	2,0
$7,34 \pm 0,33$ n=15	$7,6 \pm 0,19$ n=6	$1,1 \pm 0,04$ n=6	$1,0 \pm 0,05$ n=6

тем, что он связывает SH-группы фермента, как это было установлено нами ранее в отношении других тиолсвязывающих реагентов [12].

Обнаруженное нами активирование АМФ-аминогидролазы под влиянием трийодтиронина по величине своей уступает лишь действию АТФ и гексокиназы (ГК).

Изучение совместного действия некоторых активаторов АМФ-аминогидролазы с тиреоидными гормонами показало, что если при добавлении ГК и АТФ происходит суммирование эффектов этих соединений, то при совместном применении ГК или АТФ с трийодтиронином действие последнего не проявляется (табл. 3).

Таблица 3

АМФ-аминогидролазная активность растворимой фракции мозга крыс в присутствии некоторых активаторов фермента, мкг аммиака/проба

АМФ	АТФ	ГК	Трийодтиронин, 0,2 мкмоль	ГК+АТФ	Трийодтиронин, 0,2 мкмоль	
					АТФ	ГК
$7,34 \pm 0,33$ n=15	$56,0 \pm 2,1$ n=10	$22,4 \pm 1,1$ n=10	$17,6 \pm 0,9$ n=12	$74,3 \pm 2,8$ n=10	$55,3 \pm 2,7$ n=8	$24,2 \pm 1,1$ n=8

Эффективными активаторами АМФ-аминогидролазы являются также одновалентные катионы, в частности ионы натрия. Нами было показано, что совместное использование ионов натрия или калия с ГК приводит к усилению активирующего воздействия последней на АМФ-аминогидролазную активность. При совместном применении этих ионов с АТФ их действие представляет собой суммирование эффектов [13].

Как видно из табл. 4, при одновременном применении трийодтиронина с ионами натрия наблюдается эффект натрия. Таким образом, в присутствии различных активаторов АМФ-аминогидролазы (АТФ, ГК и од-

Таблица 4

АМФ-аминогидролазная активность растворимой фракции мозга крыс, мкг аммиака/проба

АМФ	Na ацетат, мкмоль				Трийод- тиронин, 0,2 мкмоль	Трийодтиронин (0,2 мкмоль) + Na-ацетат				ГК	ГК + Na-ацетат			
	1,0	2,5	5,0	10,0		1,0	2,5	5,0	10,0		1,0	2,5	5,0	10,0
7,34±0,33	11,1±0,4	14,6±0,6	17,9±0,5	18,8±1,2	17,6±0,9	12,5±1,0	15,0±0,9	16,8±0,8	16,0±0,9	22,4±0,9	31,1±1,0	39,0±0,7	47,2±1,1	53,5±1,0
n=15	n=6	n=6	n=8	n=6	n=12	n=7	n=7	n=7	n=6	n=10	n=6	n=6	n=6	n=6

Таблица 5

АМФ-аминогидролазная активность митохондриальной фракции мозга крыс в присутствии кортикостероидов, мкг аммиака/проба

АМФ	Кортизон, мкмоль		Гидрокортизон, мкмоль		ГК	ГК+кортизон, мкмоль		ГК+гидрокортизон, мкмоль	
	0,2	5,0	0,2	5,0		0,2	5,0	0,2	5,0
10,1±0,9	12,2±0,7	10,7±0,65	11,0±0,5	9,6±0,4	30,3±0,9	31,0±0,8	32,3±0,7	29,4±0,4	33,1±0,4
n=10	n=9	n=9	n=9	n=8	n=8	n=8	n=3	n=8	n=8

новалентные катионы) эффект тиреоидных гормонов не проявляется. По-видимому, при их связывании фермент претерпевает такие конформационные изменения, которые делают его нечувствительным к трийодтиронину.

Приведенные данные свидетельствуют об определенных различиях в механизме действия трийодтиронина и остальных активаторов АМФ-аминогидролазы мозга.

В следующей серии опытов мы исследовали влияние некоторых кортикостероидов (кортизон и гидрокортизон) на АМФ-аминогидролазную активность мозговой ткани.

Данные, приведенные в табл. 5, показывают, что кортикостероиды, используемые в концентрации 0,2 мкмоль, не оказывают какого-либо действия на АМФ-аминогидролазную активность митохондриальной фракции мозга крыс. Эффект отсутствует и при увеличении концентрации кортикостероидов до 5,0 мкмоль/проба.

В предыдущих исследованиях нами была установлена возможность образования в мозговой ткани комплекса АМФ-аминогидролазы с гексокиназой [14]. Известно также, что активность дрожжевой ГК значительно ингибируется гидрокортизоном [15, 16]. В этой связи представляло интерес выяснить, обладает ли гексокиназа активирующим эффектом в отношении АМФ-аминогидролазы в присутствии кортикостероидов.

Оказалось (табл. 5), что при совместном применении гексокиназы с кортизоном или гидрокортизоном стимулирующий эффект гексокиназы сохраняется. Таким образом, было установлено, что кортикостероиды не влияют на активность АМФ-аминогидролазы и активирующее действие гексокиназы.

Полученные данные свидетельствуют о том, что АМФ-аминогидролаза, подобно глутаминазе, нечувствительна к кортикостероидам, но подвержена действию тиреоидных гормонов, хотя и в значительно меньшей степени. Кроме того, наиболее эффективным активатором глутаминазы является тироксин [3], в то время как АМФ-аминогидролаза заметно сильнее активируется со стороны трийодтиронина, который обладает наиболее выраженным физиологическим действием [11].

Институт биохимии АН АрмССР

Поступило 15.VII 1977 г.

**ՈՐՈՇ ԹԻՐԵՈՒԻԴ ՀՈՐՄՈՆՆԵՐԻ ԵՎ ԿՈՐՏԻԿՈՍՏԵՐՈՒԴՆԵՐԻ
ԱԶԳԵՅՈՒԹՅՈՒՆԸ ՈՒՂԵՂԻ ԱՄՖ-ԱՄԻՆԱՀԻԴՐՈՂԱԶԱՅԻՆ
ԱԿՏԻՎՈՒԹՅԱՆ ՎՐԱ**

Է. Ա. ԳՈՒՂՅԱՆ, Գ. Պ. ԿԵԳԻՇՅԱՆ, Ա. Վ. ՀԱՐՈՒԹՅՈՒՆՅԱՆ,
Վ. Ս. ՀՈՎՀԱՆՆԻՍՅԱՆ

Ուսումնասիրություններից պարզվել է, որ առնետների գլխուղեղի ինչպես միտոքոնդրիալ, այնպես էլ լուծելի ֆրակցիայի ԱՄՖ-ամինահիդրոլազան ենթարկվում է թիրեոիդ հորմոնների ազդեցությանը: Չերմենտի համեմատաբար արդյունավետ ակտիվատոր է տրիյոդթիրոնինը:

Կորտիկոստերոիդները շեն ազդում ԱՄՖ-ի դեամինացման պրոցեսի վրա: Հաստատված են որոշակի տարբերություններ տրիյոդթիրոնինի, հեքստիկոնազայի և ԱՄՖ-ի ազդման մեխանիզմներում՝ ուղեղի ԱՄՖ-ամինազիդրոլազայի ակտիվության վրա:

THE EFFECT OF THYROID HORMONES AND SOME CORTICOSTEROIDS ON BRAIN AMP-AMINOHYDROLASE ACTIVITY

E. A. GULIAN, G. P. KEGISHIAN, A. V. HAROUTUNIAN, V. S. OGANESIAN

AMP-aminohydrolase activity of soluble and mitochondrial fractions of rat brain is stimulated by thyroid hormones. The most effective activator is 3, 3', 5-Triodo-L-Thyronine.

In the presence of some activators of AMP-aminohydrolase (ATP, Hexokinase and Monovalent cations) the effect of thyroid hormones is not displayed. Corticosteroids have no influence on the deamination of AMP.

Л И Т Е Р А Т У Р А

1. Оганесян В. С. и Бунятян Г. Х. Вопросы биохимии мозга, Ереван, 4, 81, 1968.
2. Оганесян В. С., Бунятян Г. Х., Бадалян Л. Л. и Микиртумова К. С. Вопросы биохимии мозга, Ереван, 6, 5, 1970.
3. Оганесян В. С., Бадалян Л. Л., Микиртумова К. С. и Саакян Ж. Дж. Вопросы биохимии мозга, Ереван, 8, 77, 1973.
4. Микиртумова К. С., Айрапетян Р. Л., Оганесян В. С. и Бунятян Г. Х. Вопросы биохимии мозга, Ереван, 11, 17, 1976.
5. Purzycka J. Acta Biochim. Polon, 9, 83, 1962.
6. Mendicino J. and Muntz J. A. J. Biol. Chem., 233, 178, 1958.
7. Sellow B. and Lowenstein J. M. J. Biol. Chem., 242, 607, 1967.
8. Bunlatlan H. Ch. and Haroutunian A. V. J. Neurochem., 18, 859, 1971.
9. Силакова А. И., Труш Г. П., Являнова Я. А. Вопросы мед. химии, 3, 538, 1962.
10. Арутюнян А. В. Автореф. докт. дисс., Ереван, 1974.
11. Рачев Р. Р., Ещенко Н. Д. Тиреоидные гормоны и субклеточные структуры. М., 1975.
12. Арутюнян А. В., Гулян Э. А. Вопросы биохимии мозга, Ереван, 6, 31, 1970.
13. Арутюнян А. В., Гулян Э. А., Манукян Л. А. и Нерсисян Ц. М. Вопросы биохимии мозга, Ереван, 8, 63, 1973.
14. Арутюнян А. В., Гулян Э. А., Бунятян Г. Х. Укр. биох. журн., 6, 702, 1974.
15. Титова Г. В. Биохимия, 35, 1028, 1970.
16. Титова Г. В. Биохимия, 36, 1083, 1971.