

УДК 612.82—577.15

ВЛИЯНИЕ АДРЕНАЛИНА И ГИДРОКОРТИЗОНА НА ДИСУЛЬФИДРЕДУКТАЗНУЮ АКТИВНОСТЬ ГОЛОВНОГО МОЗГА КРЫС

КОШОРИДЗЕ Н. И., АЛЕКСИДЗЕ Н. Г.

Установлено, что введение адреналина (внутрижелудочковое) и гидрокортизона (интубрюшинное) вызывало повышение дисульфидредуктазной активности в головном мозгу как молодых, так и старых крыс. Одновременно имело место увеличение количества свободных сульфгидрильных групп белков. На основе результатов опытов с пуроминином сделано заключение, что активирующее действие адреналина и гидрокортизона на дисульфидредуктазу является результатом ее индуктивного синтеза, который опосредуется сАМР.

Проведенными ранее исследованиями было показано, что старение сопровождается понижением активности дисульфидредуктазы (ДСР) в головном мозгу белых крыс. Исходя из важной роли SH-групп в функциональной активности нервной ткани [1—3], можно сделать вывод, что одной из возможных причин снижения активности головного мозга в связи со старением является нарушение отношения SH- и -S-S-групп белков [4].

В связи с этим в настоящей работе была предпринята попытка активации ДСР головного мозга белых крыс с целью улучшения его функционального состояния, исходя из данных литературы о стимулирующем влиянии биогенных аминов [5], сАМР [6], простагландинов и инсулина [7] на активность NADPH-зависимой ДСР селезенки и печени крыс.

Материалы и методы

В качестве объекта исследования использовали молодых (2—4-месячных) и старых (24—30-месячных) крыс.

Активность NADPH-зависимой ДСР определяли в водных экстрактах гомогената различных отделов головного мозга по методу Tietze [8].

Инкубационная среда была следующего состава: 2,5 мл трис-HCl буфер (pH—7,4), 0,5 мг водорастворимых белков, 100 мкМ NADPH и 50 мкМ дисульфидного субстрата 5,5'-дитио-бис-(2-нитробензоата). Активность ДСР измеряли спектрофотометрически по увеличению оптической плотности (ΔE_{412}). Предварительно было установлено, что при

ферментативная активность сохраняла линейную зависимость в течение 20 мин, поэтому в основных опытах время инкубации было ограничено 10 мин. Белок определяли по Lowry и соавт. [9]. Полученные данные были обработаны статистически по Стьюденту [10].

Результаты и обсуждение

В первой серии опытов было изучено влияние внутрижелудочкового введения адреналина в дозе 100 мкг/100 г живого веса животных на ДСР-активность в водных экстрактах гомогенатов коры больших полушарий, продолговатого мозга и гиппокампа. Выяснилось, что адреналин достоверно усиливал активность фермента во всех изученных структу-

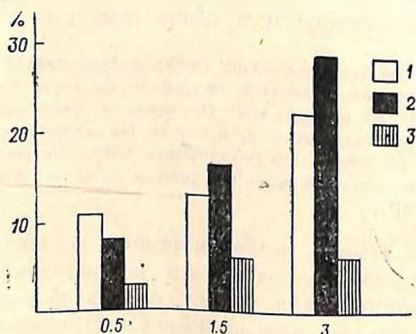


Рис. 1. Влияние адреналина на активность NADPH-зависимой дисульфидредуктазы в водных экстрактах гомогенатов коры больших полушарий (1), продолговатого мозга (2) и гиппокампа (3) белых крыс. По оси ординат—активность фермента в процентах по сравнению с контролем. По оси абсцисс—время экспозиции

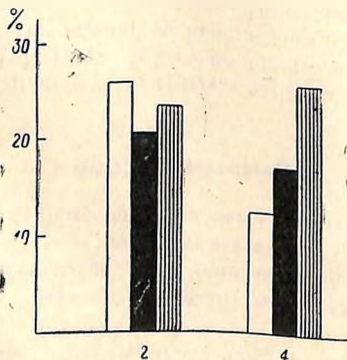


Рис. 2. Влияние АМР на активность NADPH-зависимой дисульфидредуктазы в водных экстрактах гомогенатов коры больших полушарий, продолговатого мозга и гиппокампа белых крыс. Обозначения те же, что и на рис. 1

рах с постепенным нарастанием ее в зависимости от времени экспозиции животных (рис. 1). Особенно четко эти сдвиги были обнаружены в коре больших полушарий и продолговатом мозгу. Аналогичная закономерность была установлена и в опытах с введением сАМР, однако эффекты циклического нуклеотида в большой степени проявлялись уже после 2-часовой экспозиции (рис. 2). В отличие от опытов с адреналином высокая активность ДСР сохранялась более длительно, и на 4-м часу после введения сАМР она была на 25% больше по сравнению с контролем. Полученные результаты согласуются с данными других авторов, использовавших в своих опытах ферментные препараты из селезенки и печени крыс [6].

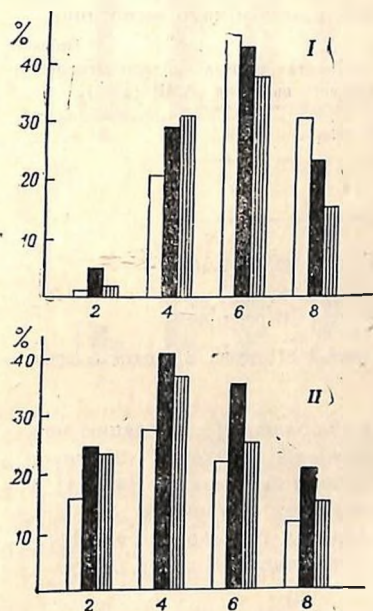


Рис. 3. Влияние внутрибрюшинного введения гидрокортизона на активность NADPH-зависимой дисульфид-редуктазы водорастворимых белков коры больших полушарий, продолговатого мозга и гиппокампа молодых (I) и старых (II) белых крыс. Остальные обозначения те же, что и на рис. 1

Повышение активности ДСР отразилось на содержании SH-групп белков головного мозга. Как видно из таблицы, через 2 ч после введения сАМР содержание SH-групп возрастало в коре больших полушарий, продолговатом мозгу и гиппокампе соответственно на 14, 20 и 18% с дальнейшим повышением, спустя 4 ч—до 30, 29 и 37% соответственно. Следовательно, не исключено, что эффекты введения сАМР на функциональное состояние животных могут реализоваться, кроме всего прочего, и в результате повышения содержания SH-групп белков.

В опытах с внутрибрюшинным введением гидрокортизона было обнаружено и его стимулирующее влияние на активность ДСР (рис. 3). Предварительно было установлено, что максимально стимулирующей ДСР дозой данного кортикостероида является введение 2,5 мг/100 г

массы животного. Далее установлено, что активность ДСР коры больших полушарий, продолговатого мозга и гиппокампа закономерно изменялась в зависимости от времени экспозиции (рис. 3). Максимальное стимулирование активности фермента во всех изученных структурах мозга молодых крыс наблюдали после 6-часовой экспозиции; на 8-м часу экспозиции активность ДСР все еще оставалась повышенной (от 15 до 30%). В отличие от молодых крыс активирование ДСР гидрокортизоном в разных областях мозга старых крыс проявлялось за более короткий период времени. Например, если после 2-часовой экспозиции увеличение активности фермента в мозгу молодых крыс не превышало 5%, то в мозгу старых крыс оно составляло уже 15—25%. При этом максимума активность ДСР у последних достигала не спустя 6 ч, как это было отмечено в мозгу молодых крыс, а на 4-м часу экспозиции.

Таблица

Увеличение содержания SH-групп в водных экстрактах разных областей головного мозга молодых крыс после внутрибрюшинного введения сАМР (в %)

Область головного мозга	Время экспозиции	
	2 ч	4 ч
Кора больших полушарий	13,90 $\pm$ 1,01	35,80 $\pm$ 2,15
Продолговатый мозг	20,70 $\pm$ 0,97	29,30 $\pm$ 1,85
Гиппокамп	18,50 $\pm$ 1,05	37,00 $\pm$ 0,63

Примечание. Содержание количества свободных SH-групп в контроле принято за 100%

При введении гидрокортизона также наблюдали корреляцию между активацией ДСР и увеличением содержания белковых SH-групп в разных структурах мозга как молодых, так и старых крыс (рис. 4). Исходя из этих данных, можно предположить, что улучшение условнорефлекторной памяти старых крыс под влиянием гидрокортизона [11] может быть опосредовано повышением содержания SH-групп водорастворимых белков мозга.

С целью выявления причин положительного эффекта адреналина и гидрокортизона на активность ДСР мы исходили из положения, что они могут действовать путем стимуляции продукции сАМР, которая индуцирует новообразование фермента [12]. Для решения этого вопроса были поставлены опыты *in vitro* и *in vivo*, в которых изучали влияние ингибитора синтеза белков пуромидина на стимулирующие эффекты гидрокортизона. Предварительное внутрибрюшинное введение пуромидина в дозе 15 мкг/100 г массы животного (опыты *in vivo*) полностью элиминировало положительные эффекты гидрокортизона на активность ДСР. Аналогичная картина наблюдалась при введении животным пуромидина и адреналина. В опытах *in vitro* ни пуромидин, ни гидрокортизон в течение 60-минутного инкубирования с водными экст-

рактами мозга не оказывали достоверного влияния на активность фермента. Учитывая медленное нарастание во времени активности фермента при введении адреналина, гидрокортизона и сАМР, а также результаты опытов *in vitro* и *in vivo* с пурамицином и гидрокортизоном, можно предположить наличие двух возможных механизмов активации ДСР. Первый может основываться на активации аденилатциклазной системы и усилении продукции сАМР, посредством которой через глюкозо-6-фос-

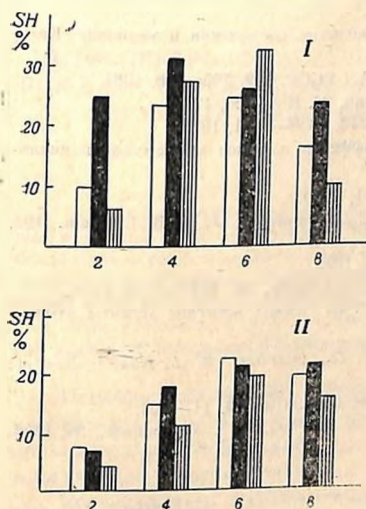


Рис. 4. Изменение содержания сульфгидрильных групп в водорастворимых белках коры больших полушарий, продолговатого мозга и гиппокампа молодых (I) и старых (II) белых крыс во времени после внутрибрюшинного введения гидрокортизона. По оси ординат—прирост свободных SH-групп в процентах по отношению к контролю, принятому за 100%. Остальные обозначения те же, что и на рис. 1

фатный цикл будет стимулировать синтез кофактора ДСР-NADPH, а второй механизм может быть связан с усилением синтеза информационной РНК [13] и транскрипции специфических генов, которые кодируют фермент—ДСР. Посредством именно таких механизмов происходит индуктивный синтез триптофанпиролазы, тирозин- α -кето-глутарат-трансаминазы, глутаминсинтазы и других ферментов [13—15].

Итак, активность NADPH-зависимой ДСР в головном мозгу можно регулировать как на уровне генетического аппарата, так и фермент-субстратных взаимоотношений. В результате мы получаем одну из возможностей направленного улучшения функции головного мозга при старении животных—путем изменения соотношения SH/S-S-групп.

EFFECT OF EPINEPHRINE AND HYDROCORTISONE ON RAT BRAIN DISULPHUREDUCTASE ACTIVITY

KOSHORIDZE N. J., ALEKSIDZE N. G.

Chair of Biochemistry, State University, Tbilisi

The effect of epinephrine and hydrocortisone on disulphureductase activity (intraventricular or Intraperitoneal injection) has been studied in

different brain areas of aged and young rats. Administration of these compounds increases enzyme activity and the amount of free SH-groups. The experiments with puromycin indicate that epinephrine and hydrocortisone induce synthesis of disulphureductase via cAMP.

ЛИТЕРАТУРА

1. Турпаев Т. М. Биохимия, 16, 611—614, 1951.
2. Турпаев Т. М. Биохимия, 20, 456—462, 1955.
3. Турпаев Т. М., Нистратова С. М.—В кн.: Тноловые соединения в медицине, Киев, с. 65, 1952.
4. Кошоридзе Н. И., Алексидзе Н. Г. Сообщ. АН ГССР, 102, 705—708, 1981.
5. Кулинский В. И., Иванов В. В. Радиобиология, 24, 833—836, 1974.
6. Кулинский В. И., Иванов В. В. ДАН СССР, 213, 1439—1441, 1973.
7. Колесниченко Л. С.—В кн.: Регуляторные эффекты и обмен моноаминов и циклонуклеотидов, Красноярск, с. 11—15, 1979.
8. Tietze F. Arch. of Biochem. Biophys., 138, 1, 1970.
9. Lowry O. H., Rosenbrough N. J., Farr A. L., Randall R. J. J. Biol. Chem., 193, 265—275, 1951.
10. Лакин Г. Ф. Биометрия, М., Высшая школа, 1980.
11. Митюшов М. И., Соколова Е. В. Ж. выш. нерв. деят., 24, 1222—1226, 1974.
12. Кометиани П. А., Алексидзе Н. Г., Клейн Е. А. Нейрохимические аспекты памяти, Тбилиси, Мецниереба, 1980.
13. Kenney F. T., Greenman W. D., Wicks W. D., Albritton W. L. Adv. in Enzyme Regulation, 3, 1, 1964.
14. Feigelson M., Feigelson P. Adv. in Enzyme Regulation, 3, 11, 1964.
15. Juurlink B. H., Shousboe A., Jourgansen O. S., Hertz L. J. Neurochem., 36, 138—142, 1981.

Кафедра биохимии Тбилисского
государственного университета

Поступила 7. VII 1982