

УДК 577.1.7

БИОХИМИЯ

Член-корреспондент АН Армянской ССР А. А. Галоян,
 Р. М. Срапюнян, Ф. М. Саакян, С. М. Галоян

**Влияние соматостатина на активность пептидил-пептид гидролаз
 (Е. С. 3.4.4) различных частей мозга**

(Представлено 10/X 1974)

Соматостатин—пептид, состоящий из 14 аминокислот следующей структуры:

Н-ала-гли-цис-лиз-асн-фен-фен-три-лиз-тре-фен-тре-сер-цис-ОН

Этот тетрадеканептид был изолирован из гипоталамуса животных и является ингибирующим фактором выделения гормона роста из аденогипофиза как *in vitro* так и *in vivo* (1,2).

Все больше накапливается данных, подтверждающих, что в гипоталамо-нейрогипофизарной системе образуется много гормонов полипептидной природы, оказывающих регулирующее влияние не только на функцию аденогипофиза (рилизинг-гормоны), но и висцеральных органов, в частности на деятельность сердца (К и С) (3-5).

В генезе полипептидных нейрогормонов мы придаем большое значение пептидил-пептид гидролазам мозга, которые действуя на различные белки-предшественники отщепляют от них соответствующий полипептид (6,7). Полипептидные нейрогормоны в свою очередь могут воздействовать на активность этих ферментов. Ранее мы определяли активность кислых и нейтральных протеаз, ди- и триаминопептидаз, моноацил- и дипептидаз ариламидаз в различных частях мозга и гипофиза (6,7). Целью настоящего исследования было изучение влияния соматостатина на активность пептидил-пептид гидролаз (кислые и нейтральные протеазы) в гипоталамусе, нейрогипофизе, коре и аденогипофизе.

Опыты были поставлены на белых крысах весом 150—200 г. Животных быстро декапитировали, в холодных условиях изолировали гипоталамическую часть, кору, аденогипофиз и нейрогипофиз. После очистки от сосудов их взвешивали и гомогенизировали стеклянным гомогенизатором (1:10) в течение 10 мин. Экстракцию ферментов производили в трис-НСI буфере, рН 7,6 (для нейтральных протеиназ) и в цитратном буфере, рН 3,2 (для кислых протеиназ). После центрифугирования в течение 15 мин (5000 об/мин) из надосадочной жидкост-

ти брали 0,1 мл для определения ферментативной активности. Субстратом для обоих ферментов служил денатурированный гемоглобин. Инкубацию проводили в течение 1 часа (37°). Ферментативную реакцию останавливали добавлением 18% трихлоруксусной кислоты. Высвобождающиеся в течение реакции NH₂-группы определяли никитрином, используя стандартную кривую глютаминовой кислоты (7). Соматостатин добавляли в каждую пробу в дозе 0,01—0,1 микрограмм.

Таблица 1

Изменение активности кислых протеаз (мкм/г свежей ткани) в гипоталамусе, коре, аденогипофизе и в нейрогипофизе у крыс при прямом добавлении соматостатина

Гипоталамус		Нейрогипофиз		Аденогипофиз		Кора	
контроль	опыт	контроль	опыт	контроль	опыт	контроль	опыт
6,7 ± 0,88	0,6 ± 0,36	15 ± 2,04	0,6 ± 0,22	12,87 ± 0,01	1,7 ± 0,20	6,6 ± 0,90	1,16 ± 0,31
(5)		(6)	(5)	(5)	(4)	(5)	
	$P < 0,001$		$P < 0,001$		$P > 0,001$		$P > 0,001$

Как видно из табл. 1 активность кислой протеиназы наивысшая в нейрогипофизе и аденогипофизе и почти одинакова в коре и в гипоталамусе. Это можно объяснить, по-видимому, тем, что в нейрогипофизе с наибольшей интенсивностью происходит расщепление белков, различных предшественников гормонов. После инкубации фермента с соматостатином через час отмечается резкое понижение активности кислой протеазы во всех изученных частях мозга и в аденогипофизе. В нейрогипофизе активность этого фермента почти полностью ингибируется. Аналогичная картина наблюдается в гипоталамусе. Весьма отчетливо ингибируется активность фермента в аденогипофизе. Затем в коре головного мозга этот эффект почти одинаково повторяется при добавлении соматостатина как в дозе 0,01, так и в дозе 0,1 мкг в пробе. Таким образом, различные дозы соматостатина оказывают одинаковое ингибирующее влияние на активность кислой протеазы. Представляет интерес изучение нейтральной протеазы, ибо главным образом при нейтральных рН среды происходит образование физиологически активных пептидов от белков-предшественников. Как видно из табл. 2 наибольшая активность нейтральной протеазы имеется в аденогипофизе, затем в нейрогипофизе, коре и в гипоталамусе. Под влиянием соматостатина резко ингибируется активность нейтральной протеазы нейрогипофиза и аденогипофиза.

Таблица 2

Изменение активности нейтральных протеаз ($\mu\text{mg}/\text{g}$ свежей ткани) в гипоталамусе, коре, аденогипофизе и в нейрогипофизе у крыс при прямом добавлении соматостатина

Гипоталамус		Нейрогипофиз		Аденогипофиз		Кора	
контроль	опыт	контроль	опыт	контроль	опыт	контроль	опыт
4.94 ± 0.37	2.08 ± 0.17	8.3 ± 0.66	0.58 ± 0.65	9.25 ± 0.87	0.68 ± 0.53	7.3 ± 0.71	1.5 ± 0.09
(5)	(5)	(5)	(6)	(6)	(7)	(6)	(5)
	$P < 0.001$		$P > 0.1001$		$P > 0.1001$		$P > 0.901$

В отличие от кислой протеазы, в гипоталамусе ингибируется около 40% нейтральной протеазы и в коре происходит торможение ее активности.

Следует отметить, что на активность нейтральной протеазы соматостатин действует ингибирующим образом в дозах 0,01 микрограмм.

Таким образом, соматостатин является мощным естественным ингибитором различных пептидил-пептид гидролаз разных отделов мозга и аденогипофиза. Это явление можно считать исключительно важным с точки зрения наличия регуляторных механизмов распада и вероятно биосинтеза белков и многих полипептидных гормонов самого мозга.

Наши данные показывают, что соматостатин обладает ингибирующим свойством и в отношении активности аминопептидаз.

Гомогенат крысы и субклеточные фракции содержат факторы, которые ингибируют очищенную кислую протениазу (активна при pH 3.2) и трипсин (активен при pH 7.6). Антитриптический фактор является термостабильным и недиализруемым началом, в небольшом количестве находится в ядре (но не является ни нуклеиновой кислотой, ни протамином и ни гистоном).

Экзогенными ингибиторами кислых протеаз является пепстатин — пентапептид бактериального происхождения (8).

В поджелудочной железе имеется вещество, которое также ингибирует трипсин. Этот фактор может оказать влияние и на активность кислой протеазы (9). Действие же пепстатина не является специфическим, так как последний оказывает влияние и на трипсин. Имеется ряд синтетических ингибиторов пептидил-пептид гидролаз, такие как 7-фенилпируват, индол-3-пируват и т. д. Таким образом, из естественных ингибиторов пептидил-пептид гидролаз в мозгу образуется только неизвестный фактор ядерного происхождения, сравнительно высокого молекулярного веса, неизвестной природы. Соматостатин является первым естественным ингибитором мозга гормонального значения, с известной химической структурой.

Институт биохимии
Академии наук Армянской ССР

Սոմատոսոտատինի ազդեցությունը պեպտիդիլ-պեպտիլ հիդրոլազայի
ակտիվության վրա ուղեղի եվ հիպոֆիզի տարբեր մասերում

Սոմատոսոտատինը տեսրադակապեպտիդ է, որն առաջանում է հիպոֆիզամուսուլում և արգելակում է սոմատոտրոպինի արտազատումն ադենոհիպոֆիզից:

Սույն աշխատանքում ցույց է տրված, որ սոմատոսոտատինի ուղղակի ազդեցության ներքո (0,1—0,01 միկրոգրամ) ուղեղի և հիպոֆիզի տարբեր հատվածների պեպտիդիլ-պեպտիդ հիդրոլազների (թթու և չեղոք պրոտեազներ) ակտիվության խիստ անկում է տեղի ունենում: Իկյս փաստը վկայում է այն մասին, որ ուղեղում գոյություն ունի պեպտիդիլ-պեպտիդ հիդրոլազների ակտիվության հորմոնալ կանոնավորման մեխանիզմներ, որոնք մեր կարծիքով կարևոր դեր կունենա պոլիպեպտիդային բնույթ ունեցող հորմոնների զեննեղում:

ЛИТЕРАТУРА — ԻՐԱԿԱՆՈՒԹՅՈՒՆ

- ¹ P. Guillemin, B. Vargha и Г. Грант. Вопросы биохимии мозга, Изд. АН Арм. ССР, VIII, 1973. ² А. А. Галоян, Некоторые проблемы биохимии гипоталамической регуляции, Изд. «Айастан», 1965. ³ А. А. Галоян и Ф. М. Саакян, ДАН СССР, 201, 483 (1971). ⁴ А. А. Галоян, Р. А. Алексанян, Р. О. Карапетян, Вопросы медицинской химии, т. XVII, 3, 2, 59 (1972). ⁵ А. А. Galoian, N. Marks and A. Lajtha, Fourth International Meeting of International Society for Neurochemistry, Tokyo, 1973, Abstract of Round-Table discussion. ⁶ N. Marks, A. Galoian, Alice Grynbaum and A. Lajtha, J. Neurochemistry, 1974. ⁷ H. Umemu et al., J. Antibiot (Japan), 23, 259, 1970. ⁸ R. Vogel, J. Trautschold and E. Wörle, Natural proteinase inhibitors, Academic Press, New-York, 1968. ⁹ S. Serra, A. Grynbaum, A. Lajtha and N. Marks Biran Research, 44, 579 (1972).