

УДК 615.361.37+612.349.8.

В. Г. МХИТАРЯН, Л. М. МЕЖЛУМЯН

## СОВМЕСТНОЕ ВЛИЯНИЕ ИНСУЛИНА, ГИДРОКОРТИЗОНА И ПЕРЕОКИСЛЕННЫХ НЕПРЕДЕЛЬНЫХ ЖИРНЫХ КИСЛОТ НА УРОКАНИНАЗНУЮ И ГИСТИДАЗНУЮ АКТИВНОСТЬ

Изучалось совместное влияние инсулина, гидрокортизона и перекисленных непредельных жирных кислот (олеиновая и линолевая) на активность гистидазы и уроканиназы печени и крови у крыс. Показано, что инсулин заметно предотвращает тормозное действие перекисидированной олеиновой кислоты на активность уроканиназы печени и крови и почти не влияет на активность гистидазы печени. Действие гидрокортизона на активность этих же ферментов выражено слабее. В опытах с линолевой кислотой инсулин и гидрокортизон несколько задерживают тормозящее действие перекисей линолевой кислоты на активность уроканиназы и гистидазы печени и резко снижают активность обоих ферментов в кровяном русле во все сроки опыта.

В одной из наших работ [2] было установлено, что под влиянием экзогенных перекисидированных непредельных жирных кислот (НЖК) происходит снижение уроканиназной и 1-гистидин-аммиак-лиазной (гистидазной) активности в печени и их перемещение из печени в кровяное русло вследствие повреждения печеночной паренхимы.

В ряде работ [3, 4, 5] показано, что некоторые гормоны вызывают заметные сдвиги в активности гистидазы и уроканиназы. В связи с этим было небезынтересно изучить влияние инсулина и гидрокортизона на их активность в сочетании с перекисидированными НЖК. Не исключалось, что по полученным данным представится возможность судить также об эффективности применения инсулина и гидрокортизона при повреждении печеночной паренхимы липидными перекисями.

**Материал и методика.** Исследования проводили на половозрелых белых крысах одного пола весом 150—200 г, содержащихся на обычном рационе вивария. Все крысы были разделены на четыре основные группы по 20 животных в каждой: 1 группа—интактные крысы служили контролем; 2-й группе вводили внутривентриально перекисидированную олеиновую или линолевую кислоту (с перекисным кислородом 30 мкмоль) в количестве 0,1 мл на 150 г веса животного; 3-й группе—те же кислоты в сочетании с инсулином в дозе 1 ед. на 100 г веса животного и 4-й группе—те же кислоты в сочетании с гидрокортизоном фирмы «Гедеон Рихтер» (Венгрия) из расчета 1 мг на 150 г веса. Затравку крыс производили ежедневно в два срока в течение 7 и 14 дней.

Активность ферментов определяли в печени и сыворотке крови по методу Тейбора и Меллера [6] в модификации Мардашева и Буробина [1] и выражали в мкмольях разложившейся (для уроканиназы) или образовавшейся (для гистидазы) уроканиновой кислоты  $\times 10^2$  при одночасовой инкубации при 37° в расчете на 1 мл сыворотки крови (услов-

ные единицы) и для печени в мкмоль/г/час на 100 г веса животного.

**Результаты исследования и обсуждение.** Как видно из данных табл. 1, у intactных крыс гистидазная и уроканиназная активность в печени составляет в среднем соответственно 9,8 и 10,6 мкмоль/г/час на 100 г веса животного, что согласуется с литературными данными. Активность этих же ферментов в кровяном русле была во всех случаях нулевая.

Таблица 1

Влияние пероксидированной олеиновой кислоты, инсулина и гидрокортизона на уроканиназную и гистидазную активность в печени (цифры выражают мкмоль/г/час уроканиновой кислоты на 100 г веса животного)

Ферменты	Контрольные крысы	Подопытные крысы											
		олеиновая кислота				олеиновая кислота+ инсулин				олеиновая кислота+ гидрокортизон			
		через 7 дней	% измене- ния	через 14 дней	% измене- ния	через 7 дней	% измене- ния	через 14 дней	% измене- ния	через 7 дней	% измене- ния	через 14 дней	% измене- ния
Уроканиназа	10,6	7,4	-30,0	5,7	-46,4	8,4	-20,8	10,4	-1,9	9,0	-15,1	6,0	-43,4
Гистидаза	9,8	6,1	-37,8	4,4	-55,0	5,8	-40,8	5,6	-42,9	7,5	-23,5	5,0	-49,0

У подопытных крыс на 7-й день затравки активность уроканиназы и гистидазы снижается под влиянием олеиновой кислоты соответственно на 30 и 37,8%. С удлинением сроков затравки до 14 дней происходит их дальнейшее снижение, причем гистидазная активность снижается больше (55%), чем уроканиназная (46,4%, табл. 1). Наряду со снижением их активности в печени происходит также и их перемещение из печени в кровь, где гистидазная активность составляет 0,5, а уроканиназная 0,36 ед. С удлинением сроков затравки их активность продолжает повышаться в крови и к 14-му дню опыта достигает 0,66 и 0,58 ед. соответственно (табл. 3).

Подобные сдвиги в активности ферментов наблюдаются и под влиянием линолевой кислоты (табл. 2). Так, после 7 затравок активность гистидазы и уроканиназы в печени снижается соответственно на 40 и 31,2% и остается почти без сдвигов после 14 затравок, в то время как в крови их активность после 7 затравок составляет 0,3 ед. (уроканиназа) и 0,5 ед. (гистидаза) и продолжает повышаться после 14 затравок, достигая 0,7 и 1,0 ед. соответственно (табл. 4).

Любопытно, что под влиянием инсулина и гидрокортизона наблюдаемые сдвиги в активности ферментов выражены сравнительно слабее и имеют тенденцию к нормализации. Так, если уроканиназная активность в печени на 7-й день опыта снижается под влиянием одной олеиновой кислоты на 30%, то в сочетании с инсулином она снижается на 20,8%. Небезынтересно, что с удлинением сроков затравки до 14 дней

Таблица 2

Влияние пероксидированной линолевой кислоты, инсулина и гидрокортизона на уруканиназную и гистидазную активность в печени (цифры выражают мкмоль/г/час уруканиновой кислоты на 100 г веса животного)

Ферменты	Подопытные крысы															
	Контрольные крысы				линолевая кислота				линолевая кислота + инсулин				линолевая кислота + гидрокортизон			
	через 7 дней	% изменения	через 14 дней	% изменения	через 7 дней	% изменения	через 14 дней	% изменения	через 7 дней	% изменения	через 14 дней	% изменения	через 7 дней	% изменения	через 14 дней	% изменения
Уруканиназа	10,6	7,3	-31,2	7,0	-34,0	7,3	-31,2	9,7	-8,5	7,3	-31,2	8,7	-18,0			
Гистидаза	9,8	5,8	-40,0	5,7	-42,0	7,3	-25,6	7,3	-25,6	6,2	-36,7	6,7	-31,7			

Таблица 3

Влияние пероксидированной олеиновой кислоты, инсулина и гидрокортизона на уруканиназную и гистидазную активность в крови (цифры выражают ед./мл/час)

Ферменты	Подопытные крысы															
	Контрольные крысы				олеиновая кислота				олеиновая кислота + инсулин				олеиновая кислота + гидрокортизон			
	через 7 дней	% изменения	через 14 дней	% изменения	через 7 дней	% изменения*	через 14 дней	% изменения	через 7 дней	% изменения	через 14 дней	% изменения	через 7 дней	% изменения	через 14 дней	% изменения
Уруканиназа	0	0,36	-	0,58	-	0,1	72	0,35	39,7	0,30	16,7	0,5	13,8			
Гистидаза	0	0,5	-	0,66	-	0,38	24	0,35	47,0	0,32	36,0	0,61	7,5			

\* В отношении олеиновой кислоты.

активность уруканиназы в печени значительно повышается, достигая 10,4 мкмоль/г/час и отстает от контроля всего лишь на 1,9%, в то время как в опытах без инсулина ее активность составляет 5,7 мкмоль/г/час, что ниже контроля на 46,4%. У этой группы крыс гистидазная активность в печени в отличие от уруканиназы, наоборот, снижается даже несколько больше (40,8%), чем без инсулина (37,8%), и продолжает оставаться ниже нормы на 42,9% после 14 затравок (табл. 1).

Таким образом, инсулин при сочетании с олеиновой кислотой не оказывает почти никакого эффекта на гистидазную активность печени на 7-й день опыта и лишь несколько снижает ее через 14 дней, между тем как гистидазная активность в крови снижается на 24% на 7-й день и на 47% на 14-й день опыта. Любопытно, что у этих же крыс в эти сроки уруканиназная активность в крови снижается на 72 и 39,9% соответственно (табл. 3).

Таблица 4

Влияние пероксидированной линолевой кислоты, инсулина и гидрокортизона на урокиназную и гистидазную активность в крови (цифры выражают ед./мл/час)

Ферменты	Контрольные крысы	Подопытные крысы											
		линолевая кислота				линолевая кислота + инсулин				линолевая кислота + гидрокортизон			
		через 7 дней	% изменения	через 14 дней	% изменения	через 7 дней	% изменения*	через 14 дней	% изменения	через 7 дней	% изменения	через 14 дней	% изменения
Уроканиназа	0	0,30	—	0,70	—	0,30	нет	0	100,0	0,18	40,0	0,17	75,4
Гистидаза	0	0,55	—	1,0	—	0,35	36,7	0	100,0	0,2	63,7	0,2	80,0

\* В отношении линолевой кислоты.

Несколько слабее проявляется действие инсулина на урокиназу при сочетании его с линолевой кислотой. Как видно из данных табл. 2, у этой группы крыс урокиназная активность в печени на 7-й день опыта снижается как под влиянием одной линолевой кислоты, так и при ее сочетании с инсулином на 31,2% (т. е. инсулин не оказывает эффекта). При удлинении сроков затравки эффект инсулина на активность ферментов становится заметным. Так, после 14 ежедневных инъекций инсулина и линолевой кислоты активность урокиназы в печени составляет 9,7 мкмоль/г/час, что ниже контроля на 8,5%, в то время как без инсулина под влиянием одной линолевой кислоты ее активность находится в пределах 7,0 ед. и отстает от контроля на 34%. Интересно, что у этой группы крыс гистидазная активность сохраняется после 7 затравок несколько лучше, чем без инсулина и остается без дальнейших изменений на 14-й день опыта. Обращает на себя внимание также тот факт, что у этих крыс на 14-й день опыта оба фермента в кровяном русле отсутствуют.

В опытах, где олеиновая кислота сочетается с гидрокортизоном, активность гистидазы и урокиназы в печени хотя и на 7-й день затравки несколько выше, чем у крыс под влиянием одной олеиновой кислоты, однако их активность все еще остается ниже, чем у контрольных крыс (табл. 1).

С удлинением сроков затравки до 14 дней происходит дальнейшее значительное снижение активности гистидазы и урокиназы в печени. Что же касается их активности в кровяном русле, то гидрокортизон и здесь не вызывает заметных сдвигов в активности ферментов, за исключением 7-го дня опыта, где активность гистидазы несколько понижена.

Как видно из данных табл. 2, гидрокортизон в сочетании с линолевой кислотой оказывает на 7-й день опыта весьма слабое действие на активность гистидазы и урокиназы в печени и хорошо сохраняет их

активность (особенно гистидазную) на 14-й день опыта. Любопытно, что активность этих же ферментов в кровяном русле, особенно после 14 затравок, резко снижается.

Таким образом, в наших исследованиях гидрокортизон оказался менее эффективным, чем инсулин, что, видимо, обусловлено его сравнительно низкой дозой. Не исключается, что применение его в больших дозах (до 10 мг/100 г веса животного) будет иметь более эффективное действие на уруканиназную и гистидазную активность. На основании целого ряда литературных и собственных данных можно заключить, что экзогенные липидные перекиси повреждают печеночную паренхиму с нарушением проницаемости мембран гепатоцитов, свидетельством чего является выход органо-специфических печеночных ферментов — гистидазы и уруканиназы в кровь, причем чем больше степень повреждения печеночной паренхимы, тем выше активность уруканиназы и гистидазы в кровяном русле.

Заслуживает внимания, что гидрокортизон и, особенно, инсулин в сочетании с экзогенными липидными перекисями повышают уруканиназную и гистидазную активность в печени и, наоборот, способствуют их снижению в кровяном русле.

Подобные изменения уруканиназной и гистидазной активности в печени и кровяном русле мы склонны объяснить действием гормонов, особенно инсулина, на проницаемость гепатоцитов, возможно, путем угнетения процесса перекисидации ненасыщенных жирных кислот, входящих в состав фосфолипидов мембран.

Отсутствие полной корреляции между гистидазной и уруканиназной активностью в печени и кровяном русле свидетельствует также о том, что липидные перекиси, действуя непосредственно на уруканиназу и гистидазу, угнетают их активность. Таким образом, низкая активность уруканиназы и гистидазы в печени, наблюдаемая в опытах при воздействии экзогенных липидных перекисей, обусловлена не только миграцией ферментов из печени в кровь, но и угнетением их активности в печени. Не исключается, что гидрокортизон и, особенно, инсулин повышают уруканиназную и гистидазную активность в печени не только путем нормализации мембранной проницаемости гепатоцитов, но и оказывая непосредственное влияние на активность ферментов.

Кафедра биохимии Ереванского  
мед. института

Поступила 24/V 1974 г.

Վ. Գ. ՄԻԻԹԱՐՅԱՆ, Լ. Մ. ՄԵԺԼՈՄՅԱՆ

ԻՆՍՏԻԼԻՆԻ, ՀԻՐՈՎՈՐՏԻԶՈՆԻ ԵՎ ՊԵՐՕՔՍԻԴԱՑՎԱՄ ՉՀԱԳԵՑԱՄ  
ՀԱՐՊԱԹՔՈՒՆԵՐԻ ԱԶԳԵՑՈՒԹՅՈՒՆԸ ՈՒՌՈՎԱՆԻՆԱԶԱՅԻ ԵՎ  
ՀԻՍՏԻԴԱԶԱՅԻ ԱԿՏԻՎՈՒԹՅԱՆ ՎՐԱ

Ա մ փ ո փ ո լ մ

Պերօքսիդացված չհագեցած ճարպաթթվաների՝ օլեինաթթվի և ինոլաթթվի ներթրվալնալին ներարկումներից (0,1 մլ 150 գ բաշին), սպիտակ առնետնե-

րի լյարդում դիտվել է հիստիդազայի և ուռոկանինազայի ակտիվության իջեցում: Միաժամանակ տեղի է ունեցել վերոհիշյալ ֆերմենտների տեղաշարժ լյարդից դեպի արյուն, որը հետևանք է հեպատոցիտների թաղանթների թափանցելիության խախտման:

Վերոհիշյալ չհագեցած ճարպաթթուների հետ հիդրոկորտիզոնի (1 մգ 150 գ քաշին) և հատկապես ինսուլինի (մեկ միավոր 150 գ քաշին) միաժամանակյա ներմուծումներից առնետների լյարդում հիստիդազայի և ուռոկանինազայի ակտիվությունը նշանակալից չափով բարձրացել է, իսկ արյան մեջ՝ իջել և անգամ հասել 0-ի:

Հիդրոկորտիզոնի և հատկապես ինսուլինի նման ազդեցությունը ուռոկանինազայի և հիստիդազայի ակտիվության վրա, արդյունք է ոչ միայն հեպատոցիտների թաղանթների թափանցելիության կարգավորման, այլև վերոհիշյալ ֆերմենտների վրա հորմոնների անմիջական ազդեցության:

### ЛИТЕРАТУРА

1. Мардашев С. Р. и Буробин В. А. В кн.: Методы исследования активности некоторых ферментов в клинике, в. VI. М., 1967, стр. 28.
2. Мхитарян В. Г., Межлумян Л. М. Журн. экспер. и клинич. медицины АН Арм. ССР, 1973, XIII, 4, стр. 3.
3. Noda K., Kusaka Y., Yoshida A. Agr. Biol. Chem., 31, 217, 1967.
4. Freedland R. A. Canad. J. Biochem., 46, 253, 1968.
5. Feigelson M. J. Biol. Chem., 243, 5088, 1968.
6. Tabar H. and Mehler A. H. В кн.: Methods in Enzymology, New-York, 1955, 2, 288.