

, УДК 615.324

Э. С. ГЕВОРКЯН, А. З. АРУТЮНЯН, Г. А. ПАНОСЯН

ИССЛЕДОВАНИЕ НЕКОТОРЫХ ИНДУЦИБЕЛЬНЫХ
ФЕРМЕНТАТИВНЫХ СИСТЕМ В ТКАНЯХ КРЫС ПРИ
ДЕЙСТВИИ ГИДРОКОРТИЗОНА И ЭСТРАДИОЛА

Изучалось влияние двух гормонов на активность четырех ферментативных систем в головном мозге и сердце крыс. Показано, что оба гормона не оказывают влияния на алкогольдегидрогеназную активность и вызывают незначительное угнетение лактатдегидрогеназной активности. Эстрадиол несколько стимулирует активность гексокиназы, в то время как гидрокортизон, наоборот, подавляет ее. Оба гормона вызывают индукцию холинэстеразы как в отдельности, так и при совместном введении.

Проблема гормональной регуляции у высших организмов очень сложна и, несмотря на имеющиеся в литературе многочисленные данные, исследована далеко не полностью. Это, несомненно, является результатом большого разнообразия механизмов действия гормонов и сложности внутриклеточных регуляторных систем у высших организмов. В настоящее время можно считать установленным, что у многоклеточных в большинстве случаев воздействие гормонов передается на генетический аппарат клетки опосредованно, через специфические медиаторы или белки-рецепторы, наличие которых в клетках обязательно. Однако, конечно, не отрицается возможность других, пока неизвестных, более сложных механизмов передачи информации гормонов на генетический аппарат. Исследование действия гормонов на индуцибельные ферментативные системы может играть огромную роль в изучении сложных внутриклеточных регуляторных механизмов у высших организмов, а также в выяснении механизмов действия различных гормонов у высших организмов.

Настоящая работа представляет собой часть исследований по выявлению и выбору гормоно-индуцибельных ферментативных систем в тканях крыс с целью дальнейшего исследования механизмов гормональной индукции и изучения действия гормонов на генетический аппарат клетки. Данная работа посвящена изучению влияния кортико-стероидного гормона гидрокортизона и полового гормона эстрадиола на активность холинэстеразы (3.1.1.8.), гексокиназы (2.7.1.1.), лактадегидрогеназы (1.1.1.27.) и алкогольдегидрогеназы (1.1.1.1.) в мозговой и сердечной тканях крыс. Выбор как гормонов-индукторов, так и ферментов не случаен. Гидрокортизон является классическим «индуцирующим» гормоном, вызывающим *de novo* синтез таких все-сторонне изученных индуцибельных ферментативных систем, как трип-

тофан-пирролаза, тирозин-трансаминаза и др. [4, 5, 7]. Эстрадиол—гормон узкоспецифического действия на органы-мишени, однако он способен вызывать индукцию ферментов и в других тканях, в частности в нервной ткани [6], изучение механизмов гормональной индукции в которой, с нашей точки зрения, может выявить некоторые новые стороны нейроэндокринных взаимоотношений. Отобраны ферментативные системы, имеющие разные функции, катализирующие различного рода реакции, принадлежащие к разным классам ферментов. Мы задались целью изучить гидрокортизоновую и эстрадиоловую индукции вышеуказанных ферментов в головном мозге и сердце крыс с тем, чтобы иметь удобную модель для дальнейших исследований.

Материал и методика

В работе использовали гидрокортизон фирмы «Рихтер» (ВНР), эстрадиол дипропионат (Харьковский завод эндокринных препаратов), АТФ, НАД, НАД-восстановленный, актиномицин-Д—все фирмы «Ренал» (ВНР), пуромицин (American Cyanamid Company, США).

Исследования проводили на крысах. Гидрокортизон вводили подкожно в количестве 5 мг на 100 г веса, животных декапитировали через 3,5—4 часа. Эстрадиол вводили внутривентриально в концентрации 10 мкг на 100 г веса, животных декапитировали через 4 часа. Для исследований *in vitro* концентрации гормонов брали: равную, в 10 раз ниже и в 10 раз превышающую их концентрации *in vivo*. Актиномицин-Д и пуромицин вводили в количестве 75 мкг и 15 мг на 100 г веса животных соответственно, за час до инъекции гормонов. Приготовление гомогената и определение холинэстеразной активности описаны ранее [3]. Активность гексокиназы, лактатдегидрогеназы и алкогольдегидрогеназы определяли спектрофотометрически [2].

Результаты экспериментов обрабатывали статистически.

Результаты и обсуждение

В таблице приведены результаты опытов по изучению действия гидрокортизона и эстрадиола на все четыре ферментативные системы в двух тканях крыс. Гидрокортизон повышает активность холинэстеразы в обеих тканях, индуцируя фермент на 70—80% [3], гексокиназная активность под действием гормона уменьшается (в сердце—на 35%), снижается также активность лактатдегидрогеназы в сердечной ткани на 18—20%. Подавление гидрокортизоном активности ферментов, по-видимому, не связано с репрессирующим влиянием гормона на генетический аппарат, а скорее является результатом непосредственного действия гормона на фермент, или же на факторы, приводящие к ингибированию активности ферментов [1]. Активность алкогольдегидроге-

Таблица

Действие эстрадиола и гидрокортизона на холинэстеразную, гексокиназную, лактатдегидрогеназную и алкогольдегидрогеназную активность в мозге и сердце крыс

Гормоны	Контроль		Эстрадиол		Гидрокортизон	
Ферменты	т к а н и					
	мозг	сердце	мозг	сердце	мозг	сердце
Холинэстераза	2,46±0,01	2,56±0,08	3,90±0,19	4,00±0,20	4,14±0,11	4,84±0,09
Гексокиназа	27,26±1,12	27,27±1,38	31,31±0,77	4,40±3,14	25,85±1,93	21,81±1,15
Лактатдегидрогеназа	13,31±0,34	8,10±0,44	12,35±0,41	7,26±0,46	12,08±0,53	7,08±0,57
Алкогольдегидрогеназа	3,01±0,18	5,15±0,18	3,37±0,19	5,06±0,17	3,53±0,32	4,86±0

назы в обеих тканях крыс после введения гидрокортизона практически не менялась. Эстрадиол повышает активность холинэстеразы в обеих тканях животных (в мозге на 58%, в сердце на 56%), что представляет особый интерес. Влияние узкоспецифического действия гормона эстрадиола на органы-мишени известно давно, однако сравнительно недавно стало известно, что эстрогены способны атаковать не только клетки-мишени. Доказательством этого являются работы Модгила и Канунго, показавших, что эстрадиол индуцирует ацетилхолинэстеразную активность в различных участках мозга крыс на 45—110% в зависимости от возраста животных, причем больше индуцируется активность фермента у 9-недельных самок, у половозрелых крыс активность ацетилхолинэстеразы увеличивается на 30—50% (в разных участках мозга) [6]. Полученные нами результаты согласуются с этими данными. Эстрадиол стимулирует также гексокиназную активность, причем увеличение активности больше выражено в сердечной ткани (на 42%, таблица). Аналогичных данных о стимулирующем влиянии эстрадиола на активность гексокиназы в литературе нам найти не удалось. Из таблицы видно, что активность алкогольдегидрогеназы в обеих тканях под действием гормона не меняется, в то время как в сердечной ткани лактатдегидрогеназная активность незначительно угнетается (на 10%).

На рис. 1 представлены результаты экспериментов с применением ингибиторов белкового синтеза актиномицина-Д и пурамицина. Опыты показали, что оба ингибитора синтеза белка снимают стимулирующее холинэстеразную активность влияние эстрадиола в обеих тканях, что свидетельствует об истинной индукции фермента. Интересно, что данное подавление ферментативной активности под действием ингибиторов проявляется как на уровне транскрипции, так и трансляции, и уровень активности значительно ниже, чем в контрольных экспериментах (рис. 1). Ранее нами была доказана ингибибельность холинэстеразы в некоторых тканях крыс под действием гидрокортизона [3].

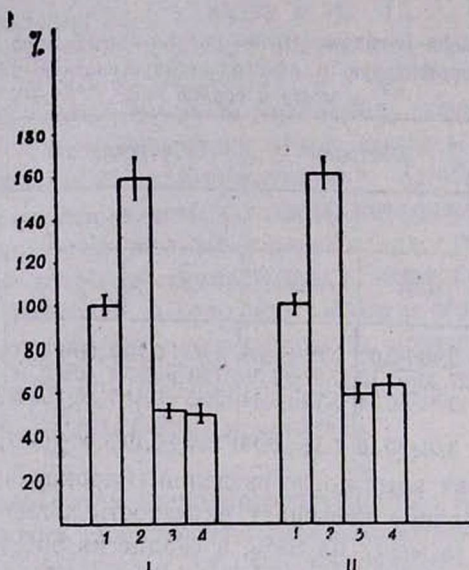


Рис. 1. Действие ингибиторов синтеза белка на повышение эстрадиолом холинэстеразной активности в мозге (I) и в сердце (II) крыс. На оси ординат—активность фермента в процентах; 1—контроль, 2—обработка эстрадиолом, 3—актиномицин-Д+эстрадиол, 4—пуромицин+эстрадиол.

Для выяснения действия обоих гормонов на активность лактатдегидрогеназы были поставлены эксперименты по изучению влияния гормонов непосредственно на фермент в гомогенате *in vitro*. Опыты показали, что угнетающее действие гормонов, по-видимому, является результатом непосредственного действия гормонов на лактатдегидрогеназу, так как и в опытах *in vitro* оба гормона в разных концентрациях вызывают уменьшение активности фермента (рис. 2).

На рис. 3 представлены результаты экспериментов по определению активности холинэстеразы под воздействием двух гормонов одновременно. Опыты показывают, что при совместном введении в организм животных гормонов наблюдается индукция холинэстеразы, уровень которой превышает индукцию, вызванную одним гормоном. Так, если гидрокортизон индуцирует холинэстеразу в среднем на 70—80%, а эстрадиол—на 55—60%, то оба гормона совместно вызывают повышение в среднем не более чем на 100—110%. Столь ограниченная индукцибельность фермента, по-видимому, обусловлена тем, что холинэстераза обладает относительной стабильностью ко всяким гормональным воздействиям. Всякие резкие колебания активности фермента, играющего ключевую роль в функционировании нервной системы, могут приводить к довольно ощутимым нарушениям ее.

Совместное введение гормонов в организм животных вызывает более резкое уменьшение активности лактатдегидрогеназы в обоих тканях (рис. 4). При этом угнетающее лактатдегидрогеназную актив-

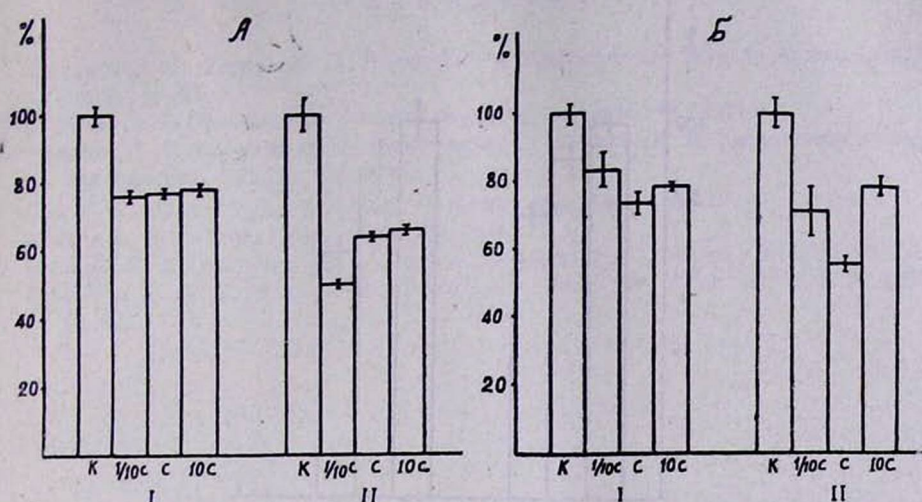


Рис. 2. Действие гидрокортизона (А) и эстрадиола (Б) на активность лактатдегидрогеназы *in vitro* в гомогенате мозга (I) и сердца (II) крыс. На оси ординат—активность фермента в процентах; К—контроль, С—концентрация гормонов, соответствующая их концентрации в *in vitro* экспериментах.

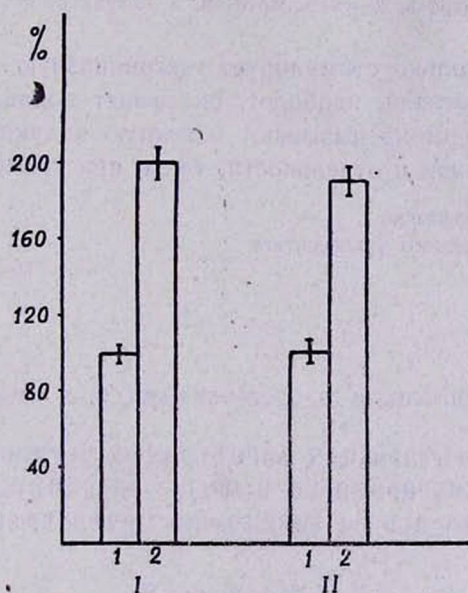


Рис. 3. Совместное действие гидрокортизона и эстрадиола на активность холинэстеразы в мозге (I) и сердце (II) крыс. На оси ординат—активность фермента в процентах; 1—контроль, 2—гидрокортизон + эстрадиол.

ность влияние гормонов усиливается, в результате чего выявляется резкое уменьшение активности.

Таким образом, эксперименты показали, что введение гормонов гидрокортизона и эстрадиола в организм крыс не оказывает существенного влияния на алкогольдегидрогеназную активность в данных тканях, вызывает некоторое угнетение активности лактатдегидрогена-

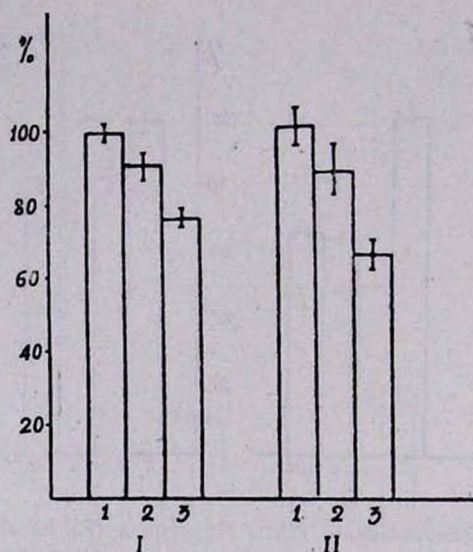


Рис. 4. Совместное действие гидрокортизона и эстрадиола на активность лактатдегидрогеназы в мозге (I) и сердце (II) крыс. На оси ординат—активность фермента в процентах; 1—контроль, 2—гидрокортизон, 3—эстрадиол + гидрокортизон.

зы. Эстрадиол несколько стимулирует гексокиназную активность, в то время как гидрокортизон, наоборот, оказывает подавляющее влияние на фермент. Оба гормона вызывают истинную индукцию холинэстеразы в обеих тканях как в отдельности, так и при совместном введении.

Кафедра биофизики

Ереванского государственного университета

Поступила 15/II 1977 г.

Է. Ս. ԳԵՎՈՐԳՅԱՆ, Ա. Զ. ՀԱՐՈՒԹՅՈՒՆՅԱՆ, Գ. Հ. ՓԱՆՈՍՅԱՆ

ՄԻ ՇԱՐՔ ԻՆԴՈՒԿՑՎՈՂ ՖԵՐՄԵՆՏԱՏՈՒՎ ՀԱՄԱԿԱՐԳԵՐԻ ՈՒՍՈՒՄՆԱՍԻՐՈՒԹՅՈՒՆԸ ԱՌՆԵՏԻ ՀՅՈՒՍՎԱԾՔՆԵՐՈՒՄ ՀԻԴՐՈԿՈՐՏԻՉՈՆԻ ԵՎ ԷՍՏՐԱԴԻՈՆԻ ԱԶԴԵՑՈՒԹՅԱՆ ՏԱԿ

Ա մ փ ո փ ո լ մ

Ուսումնասիրված է երկու հորմոնների ազդեցությունը առնետի գլխուղեղի և սրտի չորս ֆերմենտատիվ համակարգերի վրա: Յուրյց է տրված, որ երկու հորմոնն էլ չեն ազդում ալկոհոլդեհիդրոգենազի ակտիվության վրա և փոքրինչ իջեցնում են լակտատդեհիդրոգենազի ակտիվությունը: Հստակագիտվել է, որ չափով խթանում է հեկսոկինազի ակտիվությունը, մինչդեռ հիդրոկորտիզոնը, ընդհակառակն, իջեցնում է այն: Երկու հորմոնն էլ առաջացնում են խոլինէսթերազի ինդուկցիա տվյալ հյուսվածքներում ինչպես առանձին, այնպես էլ համատեղ ներարկման ժամանակ:

ЛИТЕРАТУРА

1. Геворкян Э. С., Явроян Ж. В., Паносян Г. А. Биологический журнал Армении, 1977, 30, 5, стр. 23.
2. Кочетов Г. А. Практическое руководство по энзимологии. М., 1971.
3. Паносян Г. А., Геворкян Э. С., Даниелян Т. С., Назарян К. Б. Биологический журнал Армении, 1972, 25, 2, стр. 40.
4. Cho Y. S., Pitot H. C., Morris H. P. Cancer Res., 1964, 24, 52.
5. Kenney F. T. J. Biol. Chem., 1962, 237, 1610.
6. Moudgil V. K., Kanungo M. S. Biochem. Biophys. Res. Commun., 1973, 52, 23, 725.
Thompson E. B., Tomkins G. M., Curran J. F. Proc. Nat. Acad. Sci. U. S. A., 1966, 56, 296.