

УДК 577.15→612.015+612.018

БИОХИМИЯ

Б. С. КАСАВИНА, Н. Б. ЧЕСНОВА

АКТИВНОСТЬ КИСЛЫХ НУКЛЕАЗ ТКАНЕЙ ГЛАЗА ПРИ ДЕЙСТВИИ КОРТИКОСТЕРОИДНЫХ ГОРМОНОВ

(Представлено академиком А. И. Опариным 24 I 1973)

Спектр действия стероидных гормонов в организме весьма широк благодаря тому, что эти гормоны оказывают влияние на состояние генетического аппарата, а также на проницаемость мембранных структур клетки (¹⁻³).

Орган зрения не считается классическим органом — мишенью действия стероидных гормонов. Однако в последние годы установлено, что регуляция внутриглазного давления — одного из основных показателей состояния органа зрения — находится под контролем системы гипофиз — гипоталамус — кора надпочечников (^{4, 5}). Кроме того, в некоторых тканях глаза (хрусталик, сетчатка) обнаружены акцепторные белки, способные связывать кортикостероиды (⁶⁻⁸).

В настоящей работе поставлена задача исследовать действие глюкокортикоида гидрокортизона и минералокортикоида дезоксикортикостерона-ацетата (ДОКСА) на ферментативную активность некоторых тканей глаза, принимающих непосредственное участие в регуляции внутриглазного давления. Исследовали активность кислых нуклеаз — ферментов, участвующих в контроле процессов транскрипции и трансляции (⁹).

Для опытов использовали 80 кроликов-самцов породы шиншилла весом 2—2,5 кг. Животных забивали декапитацией, глаза энуклеировали

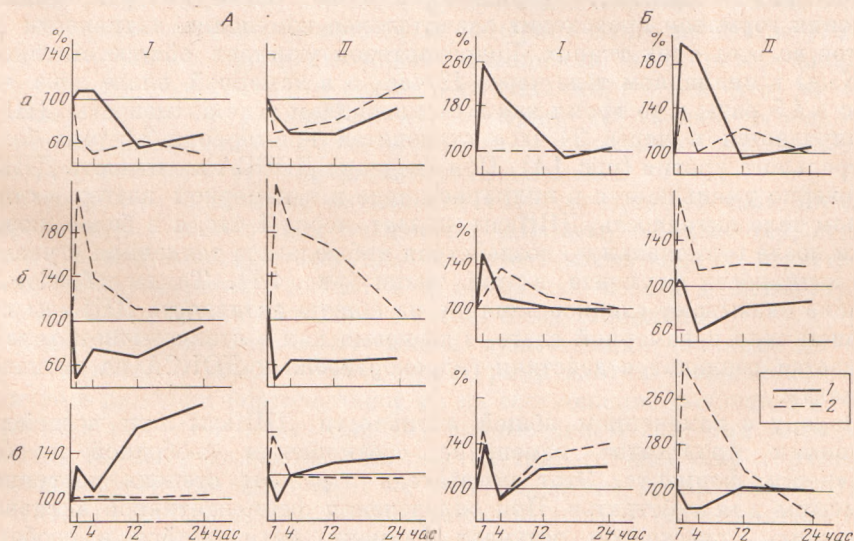


Рис. 1. Влияние кортикостероидов на активность ДНКазы (А) и РНКазы (Б) в тканях глаза. I — гидрокортизон, II — дезоксикортикостерон. а — цилиарное тело, б — камерная влага, в — стекловидное тело. 1 — общая активность, 2 — свободная активность

и на холоду выделяли камерную влагу, стекловидное тело и цилиарное тело. В этих тканях определяли свободную и общую активность кислых ДНКазы и РНКазы (¹⁰). Ферментативную активность рассчитывали в $\mu\text{моль/мин}$ на 1 г белка. Гидрокортизон и ДОКСА вводили кроликам внутривбрюшинно в виде водной суспензии в дозе 10 мг/кг. Животных забивали через 1, 4, 12 и 24 часа после введения гормонов.

Исследовали также непосредственное действие гормонов на гомогенаты тканей глаза в опытах *in vitro*. С этой целью гомогенаты тканей

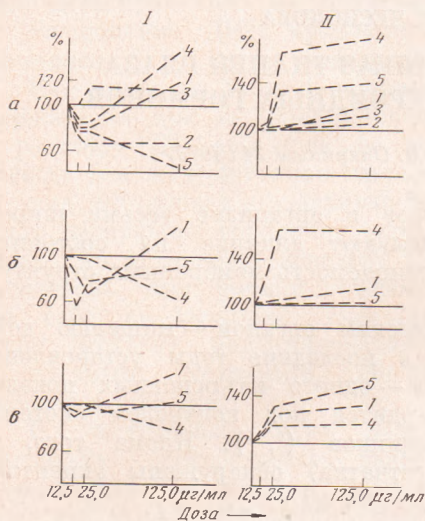


Рис. 2. Влияние кортикостероидов на кислые гидролазы тканей глаза (опыты *in vitro*). 1—кислая фосфатаза, 2— β -глюкозидаза, 3— β -галактозидаза, 4—ДНКазы, 5—РНКазы. Остальные обозначения те же, что на рис. 1

нуклеазы сосредоточены в основном в лизосомах. Результаты настоящего исследования показали, что уже через 1 час после внутривбрюшинного введения гормонов происходит значительное изменение активности ферментов во всех трех тканях. Гидрокортизон угнетает общую активность ДНКазы в цилиарном теле через 12 час., а в камерной влаге уже через 1 час в 1,5 раза, в то время как в стекловидном теле активность ДНКазы увеличивается и через 24 часа становится примерно в 2,5 раза больше контрольного уровня (рис. 1А). При введении ДОКСА активность ДНКазы достоверно уменьшается в цилиарном теле и в камерной влаге; в стекловидном теле активность ДНКазы падает через 1 час, а в более поздние сроки после гормонального воздействия наблюдается тенденция к увеличению активности фермента в этой ткани (рис. 1А). Таким образом, оба гормона оказывают сходное влияние на общую активность ДНКазы в цилиарном теле и камерной влаге, в то время как в стекловидном теле наблюдается различие в действии гидрокортизона и ДОКСА на активность фермента.

Наряду с изменением общей активности ДНКазы при воздействии гормонами происходит изменение соотношения свободной и общей активности фермента. Этот показатель отражает степень доступности ферментов для субстратов. При определении ферментативной активности в реакцию с субстратом вступает фермент, находящийся в свободном состоянии, в то время как активность фермента, связанного с мембранами, до разрушения субклеточных структур детергентом не проявляется, т. е. фермент находится в неактивной (латентной) форме. В цилиар-

инкубировали с водной мелкодисперсной суспензией гидрокортизона и спиртовым раствором ДОКСА в дозах 12,0, 25,0 и 125,0 $\mu\text{г/мл}$ в течение 30 мин. при 37°, после чего определяли активность ферментов. Полученные результаты сравнивали с ферментативной активностью гомогенатов после предварительной инкубации в тех же условиях с растворителями. В этой серии опытов проводили также исследование действия гормонов на кислую фосфатазу, β -глюкозидазу, β -галактозидазу (¹¹). Результаты экспериментов обрабатывали общепринятыми методами вариационной статистики.

Как уже ранее было показано (¹²), кислые ДНКазы и РНКазы распределены в субклеточных фракциях цилиарного тела подобно типичным лизосомальным ферментам (кислой фосфатазе, β -глюкозидазе, β -галактозидазе, а также гиалуронидазе). Поэтому есть основания

ном теле при действии гидрокортизона и ДОКСА процент свободной активности по отношению к общей падает ($P < 0,01$), в то время как в камерной влаге этот показатель увеличивается вдвое уже через 1 час после введения гормона и через 24 часа возвращается к норме. В стекловидном теле соотношение свободной и общей активности при введении гидрокортизона практически не меняется на протяжении 24 час., а при введении ДОКСА несколько увеличивается ($P < 0,05$) через 1 час после введения гормона.

Как гидрокортизон, так и ДОКСА оказывают более существенное влияние на активность кислой рибонуклеазы в тканях глаза (рис. 1Б). При внутрибрюшинном введении гидрокортизона происходит увеличение общей активности фермента во всех трех тканях: в цилиарном теле — в 2,5, а во влаге и в стекловидном теле — в 1,5 раза. При введении ДОКСА активность РНКазы вдвое увеличивается в цилиарном теле и несколько уменьшается в камерной влаге ($P < 0,01$) и стекловидном теле ($P < 0,05$). В цилиарном теле гидрокортизон не оказывает влияния на соотношение свободной и общей активности РНКазы, достоверно увеличивая его в камерной влаге и стекловидном теле. При введении ДОКСА процент свободной активности фермента от общей увеличивается во всех трех тканях, особенно в стекловидном теле.

При непосредственном действии гормонов на гомогенаты тканей в опытах *in vitro* (рис. 2) гидрокортизон уменьшает долю свободной активности ферментов по отношению к общей как в случае кислых нуклеаз, так и других гидролаз, что соответствует известному стабилизирующему действию этого гормона на лизосомы других тканей (¹³). В стекловидном теле подобное действие гидрокортизона выражено незначительно. Дезоксикортикостерон, наоборот, уменьшает латентность кислых гидролаз, увеличивая долю свободной активности ферментов при малых концентрациях (12,5; 25,0 $\mu\text{г/мл}$) пропорционально дозе, а при высокой (125,0 $\mu\text{г/мл}$) его действие в меньшей степени зависело от дозы.

Таким образом, кортикостероиды вызывают быстрое и значительное изменение активности нуклеаз в тканях глаза, а также влияют на выход этих ферментов в камерную влагу, что свидетельствует о том, что под влиянием этих гормонов происходит перестройка клеточного метаболизма в тканях глаза. Действие гормонов существенно зависит от вида ткани. Так, изменение активности нуклеаз в камерной влаге не всегда соответствует изменению ферментативной активности в секретирующей ее ткани — цилиарном теле. Это связано, по-видимому, с тем, что во влагу поступают также ферменты из окружающих ее тканей, особенно из хрусталика, обмен которого с остальным организмом осуществляется исключительно через эту внутриглазную жидкость.

Более резкое изменение активности РНКазы при действии гормонов по сравнению с изменением активности ДНКазы, по-видимому, связано с тем, что, как известно, стероиды вызывают значительную перестройку обмена рибонуклеиновых кислот, в то время как состав и концентрация дезоксирибонуклеиновой кислоты в клетке более стабильны.

Кортикостероиды оказывают также существенное влияние на связь кислых нуклеаз с мембранными структурами клетки. Выявленное нами различие в действии кортикостероидов на соотношение свободной и общей активности кислых нуклеаз при внутрибрюшинном введении гормонов и в опытах *in vitro*, возможно, объясняется тем, что действие гормонов в целостном организме зависит от их метаболических превращений. Не исключено, что в опытах *in vivo* эти гормоны оказывают также сильное влияние на состояние многочисленных естественных ингибиторов и активаторов кислых нуклеаз.

В доступной нам литературе мы не встречали сообщений о влиянии кортикостероидов на метаболизм нуклеиновых кислот в исследуемых тканях глаза. Однако установлено (¹⁴), что при раздражении ядер гипотала-

муса — одного из звеньев системы, регулирующей уровень кортикостероидов в крови, в цилиарном теле происходит изменение концентрации нуклеиновых кислот.

На основании настоящей работы можно предположить, что тонкая регуляция кортикостероидами метаболизма тканей глаза осуществляется при участии системы синтеза белка.

Московский научно-исследовательский
институт глазных болезней
им. Гельмгольца

Поступило
24 I 1973

ЦИТИРОВАННАЯ ЛИТЕРАТУРА

- ¹ П. В. Сергеев, С. Д. Сейфулла, А. И. Майский, Молекулярные аспекты действия стероидных гормонов, М., 1971. ² Н. А. Юдаев, Т. Н. Протасова, Усп. совр. биол., **72**, 14, 18 (1971). ³ B. W. O'Malley, New England J. Med., **284**, 7, 370 (1971). ⁴ А. Я. Бунин, В. М. Пантйелева, Г. Я. Чернявский, Материалы симпозиума по вопросам патогенеза первичной глаукомы, М., 1970, стр. 53. ⁵ B. Becker, Th. Krupin, S. M. Podos, J. Clin. Endocrinol., **32**, 669 (1971). ⁶ G. J. Chader, L. Reif-Lehrer, Biochim. et biophys. acta, **264**, 1, 186 (1972). ⁷ G. Chader, R. Meltzer, J. Silver, Biochem. and Biophys. Res. Commun., **46**, 6, 2026 (1972). ⁸ S. Ono, Ophthal. Res., **3**, 4, 233 (1972). ⁹ В. С. Шапот, Нуклеазы, М., 1968. ¹⁰ Б. С. Касавина, П. В. Сергеев, Н. Б. Чеснокова, Бюлл. эксп. биол., **9**, 47 (1972). ¹¹ Б. С. Касавина, П. В. Сергеев, Н. Б. Чеснокова, ДАН, **204**, № 6, 1479 (1972). ¹² Б. С. Касавина, Н. Б. Чеснокова, ДАН, **209**, № 4 (1973). ¹³ G. Weissmann, Federat. Proc., **23**, 1038 (1964). ¹⁴ Н. Ф. Шапошникова, Н. Ф. Поляков, Вестн. офтальмол., **5**, 86 (1972).