

Б. С. КАСАВИНА, В. М. ДРОНОВА, Н. И. КИСЛЯКОВА

## ГОРМОНАЛЬНАЯ РЕГУЛЯЦИЯ АКТИВНОСТИ ГЛИКОЗИДАЗ ТКАНЕЙ ГЛАЗА

(Представлено академиком А. И. Опариным 31 V 1974)

В аспекте биохимии глаза далеко недостаточно изучены эффекты воздействия гормонов на глазное яблоко. Лишь в последние годы появились работы, в которых было показано, что ферменты отдельных тканей глаза чувствительны к воздействию стероидных гормонов (<sup>1</sup>, <sup>2</sup>). Тем не менее, гормональная регуляция активности ферментов представляет интерес в связи с раскрытием механизмов действия гормонов на биохимические процессы, протекающие в тканях глаза в условиях патологии органа зрения.

Целью настоящей работы является изучение влияния тиреотропного гормона (ТТГ), тироксина, а также гидрокортизона на активность гликозидаз некоторых тканей глаза.

Работа проведена на 60 кроликах-самцах породы шиншилла. Исследовали активность гиалуронидазы,  $\beta$ -глюкозидазы и  $\beta$ -галактозидазы в следующих тканях глаза: склере, роговице, цилиарном теле, камерной влаге и стекловидном теле. В гомогенатах тканей определяли свободную, общую и связанную активность ферментов. Методы определения активности ферментов описаны в предыдущих работах (<sup>1</sup>, <sup>3</sup>).

Были использованы тиреотропный гормон («ВНИИЛ», 1 ед/мг), тироксин («Reanal», Венгрия) и гидрокортизон («Рихтер», Венгрия). В опытах *in vivo* гормоны вводили внутривенно в следующих дозах: ТТГ 4 ед/кг, тироксин 100 мкг/кг, гидрокортизон 10 мг/кг. Животных забивали через 1, 4, 24 и 72 часа после гормонального воздействия. В опытах *in vitro* гормоны вводили в инкубационную смесь в следующих концентрациях: ТТГ 6 ед/мл, тироксин  $3 \cdot 10^{-4}$  М.

Результаты исследования показали, что уже через 1 час после введения как ТТГ, так и тироксина происходит снижение активности  $\beta$ -глюкозидазы и  $\beta$ -галактозидазы в тканях глаза (рис. 1). Подобные сдвиги могут свидетельствовать о том, что в первый час действия гормонов происходит увеличение прочности связи ферментов с мембранными структурами лизосом. Через 4 часа после введения гормонов в склере отмечалось увеличение свободной активности  $\beta$ -глюкозидазы и  $\beta$ -галактозидазы (рис. 1, А, Б, б), что, вероятно, можно объяснить освобождением ферментов из связанного состояния и переходом их в свободную для контактирования с субстратами форму. В роговице (рис. 1, А, б, в) и цилиарном теле (рис. 1, А, Б, а) через 4 часа после введения как ТТГ, так и тироксина не отмечалось значительных сдвигов в активности  $\beta$ -глюкозидазы и  $\beta$ -галактозидазы. В стекловидном теле и камерной влаге применяемыми методами не удалось выявить активность  $\beta$ -глюкозидазы и  $\beta$ -галактозидазы.

Что касается гиалуронидазной активности, то наиболее резкие сдвиги под влиянием ТТГ и тироксина были обнаружены в склере. Так, уже через 1 час после воздействия ТТГ активность гиалуронидазы в склере превышала контрольный уровень на 140%, а после введения тироксина — на 168%. Активность гиалуронидазы в склере, в сравнении с другими тканями, оставалась на высоком уровне в дальнейшие часы эксперимента, и лишь через 24 часа после введения гормонов появилась тенденция к

снижению активности фермента. Можно полагать, что ТТГ и тироксин вызывают в склере снижение прочности связи фермента с лизосомальной мембраной.

Обращает на себя внимание факт, что в камерной влаге через 1 час после введения тироксина отмечалось увеличение уровня активности гиалуронидазы на 150% в сравнении с контролем, что не наблюдалось в опытах с ТТГ. Полученное расхождение в действии ТТГ и тироксина на гиалуронидазу камерной влаги, по всей вероятности, объясняется возможным регулирующим влиянием тироксина на секрецию фермента

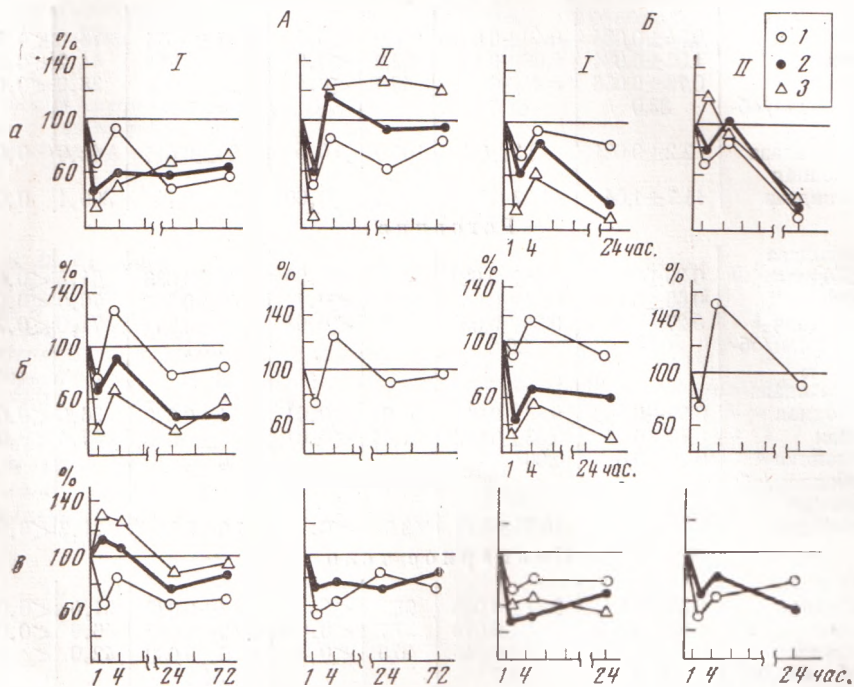


Рис. 1. Влияние тиреотропного гормона (А) и тироксина (Б) на активность  $\beta$ -глюкозидазы (I) и  $\beta$ -галактозидазы (II) в цилиарном теле (а), склере (б), роговице (в). I — свободная активность, 2 — общая активность, 3 — связанная активность

клетками цилиарного эпителия, что показано предыдущими исследователями для гидрокортизона (3).

Эффекты действия ТТГ и тироксина в опытах *in vitro* также оказались различными (табл. 1). Направленность и степень изменения активности гликозидаз, полученные в опытах *in vivo*, в основном подтверждаются в опытах *in vitro* с ТТГ, но не совпадают в опытах *in vitro* с тироксином. Можно полагать, что несовпадение эффектов действия ТТГ и тироксина служит доказательством различия механизмов действия гормонов на уровне клетки. По данным литературы, эффект действия ТТГ в клетке осуществляется через посредство циклического 3', 5'-аденозинмонофосфата (3', 5'-АМФ), который обладает *in vitro* стимулирующим действием, сходным с ТТГ (4-6), тогда как тироксин непосредственно воздействует на мембранные фосфолипиды (7).

Изучение гликозидаз склеры и роговицы в нашей работе проводилось впервые. Представляет интерес исследование влияния гидрокортизона на ферментативную активность этих тканей. Оказалось, что уже через 1 час после введения гормона наблюдалось снижение активности гликозидаз в склере и роговице. Исключение составляла гиалуронопидаза склеры, активность которой возрастала на 17% относительно контроля. Основываясь на

Таблица 1

Влияние тиреотропного гормона и тироксина на активность гликозидаз тканей глаза (мкмол/мин на 1 г белка)

Гликозидазы	Контроль	Тиреотропный гормон			Тироксин		
	$M \pm m$	$M \pm m$	% к контролю	$P$	$M \pm m$	% к контролю	$P$
<b>Склера</b>							
$\beta$ -Глюкозидаза свободная	$0,34 \pm 0,084$	$0,42 \pm 0,051$	125,0	$<0,1$	$0,27 \pm 0,051$	78,8	$<0,5$
общая	$1,03 \pm 0,084$	$0,88 \pm 0,106$	62,2	$<0,05$	$0,46 \pm 0,036$	44,2	$<0,01$
связанная	$0,78 \pm 0,056$	$0,31 \pm 0,052$	48,7	$<0,1$	$0,20 \pm 0,046$	28,9	$<0,001$
свободная/общая, %	33,0	61,8			59,0		
$\beta$ -Галактозидаза свободная	$2,2 \pm 0,021$	$2,3 \pm 0,15$	106,0	$>0,5$	$0,93 \pm 0,011$	42,0	0,001
Гиалуронидаза	$11,7 \pm 1,04$	$44,57 \pm 3,2$	380,0	$<0,001$	$37,0 \pm 2,74$	300,1	0,001
<b>Роговица</b>							
$\beta$ -Глюкозидаза свободная	$0,39 \pm 0,056$	$0,15 \pm 0,023$	31,2	$<0,001$	$0,24 \pm 0,033$	61,3	$<0,02$
общая	$0,66 \pm 0,088$	$0,51 \pm 0,044$	70,8	$<0,1$	$0,46 \pm 0,055$	70,0	$<0,02$
связанная	$0,27 \pm 0,019$	$0,36 \pm 0,032$	150,0	$<0,05$	$0,22 \pm 0,24$	71,0	$<0,2$
свободная/общая, %	60,0	29,4			52,1		
$\beta$ -Галактозидаза свободная	$0,60 \pm 0,062$	$0,33 \pm 0,023$	55,0	$<0,01$	$0,34 \pm 0,029$	56,0	$<0,02$
общая	$0,70 \pm 0,077$	$0,33 \pm 0,023$	47,44	$<0,01$	$0,33 \pm 0,062$	47,4	$<0,01$
связанная	$0,10 \pm 0,015$	0,00			0,00		
свободная/общая, %	87,5						
Гиалуронидаза	$37,0 \pm 0,53$	$16,33 \pm 5,17$	43,5	$<0,1$	$7,0 \pm 0,82$	21,3	$<0,001$
<b>Цилиарное тело</b>							
$\beta$ -Глюкозидаза свободная	$0,33 \pm 0,014$	$0,31 \pm 0,023$	93,3	$<0,5$	$0,17 \pm 0,029$	51,0	$<0,001$
общая	$1,03 \pm 0,093$	$0,61 \pm 0,070$	57,7	$<0,001$	$0,49 \pm 0,067$	46,9	$<0,001$
связанная	$0,71 \pm 0,044$	$0,28 \pm 0,044$	40,6	$<0,5$	$0,30 \pm 0,060$	42,0	$<0,001$
свободная/общая, %	32,0	51,2			34,8		
$\beta$ -Галактозидаза свободная	$0,78 \pm 0,027$	$0,69 \pm 0,049$	89,2	$<0,05$	$0,29 \pm 0,28$	37,1	$<0,001$
общая	$0,16 \pm 0,088$	$1,32 \pm 0,082$	114,0	$<0,001$	$0,52 \pm 0,060$	45,0	$<0,001$
связанная	$0,38 \pm 0,032$	$0,42 \pm 0,063$	121,0	$<0,1$	$0,22 \pm 0,062$	60,0	$<0,05$
свободная/общая, %	33,0	48,9			55,7		
Гиалуронидаза	$5,4 \pm 0,53$	$8,8 \pm 1,47$	164,0	$<0,5$	$8,0 \pm 1,5$	114,0	$<0,2$
<b>Камерная влага</b>							
Гиалуронидаза	$57,0 \pm 4,31$	$244 \pm 14,21$	352,0	$<0,001$	$30,0 \pm 9,9$	55,0	$<0,1$

анализе ферментных сдвигов в склере, вызываемых гормональным действием, мы позволяем себе высказать предположение об особой чувствительности ферментных систем склеры к воздействию гормонов.

Значительные сдвиги гиалуронидазной активности в сторону ее увеличения могут способствовать ускорению процессов деполимеризации основных субстратов фермента — кислых мукополисахаридов. Существуют литературные данные о регулирующем влиянии гормонов на субстраты гликозидаз. Так, показано влияние тироксина на содержание гиалуроновой кислоты в ткани аорты (<sup>8</sup>); известно регулирующее влияние кортикостероидов на содержание кислых мукополисахаридов в тканях глаза (<sup>9</sup>). Можно полагать, что изменение фермент-субстратных взаимоотношений под воздействием гормонов является одной из сторон их регулирующего влияния на биохимические процессы.

Весьма вероятно, что в основе деструктивных процессов в тканях

глаза лежит изменение активности ферментов, локализованных в лизосомах. В этой связи важно отметить регулирующее влияние гормонов на проницаемость лизосомальной мембраны. Имеются исследования, показывающие лабилизирующее или стабилизирующее действие кортикостероидов, эстрагенов, андрогенов, тиреотропина на мембраны лизосом (<sup>10-13</sup>).

Регулирующая функция гормонов на активность ферментов тканей глаза подтверждается выявленными нами различиями во влиянии гормонов разного спектра действия на гликозидазы сред и тканей глаза. На основании полученных результатов можно предположить возможность участия гликозидаз тканей глаза в развитии патологических состояний органа зрения, протекающих на фоне гормонального дисбаланса организма.

Московский научно-исследовательский  
институт глазных болезней  
им. Гельмгольца

Поступило  
28 V 1974

#### ЦИТИРОВАННАЯ ЛИТЕРАТУРА

- <sup>1</sup> Б. С. Касавина, П. В. Сергеев, Н. Б. Чеснокова, ДАН, т. 204, 6, 1479 (1972).  
<sup>2</sup> Б. С. Касавина, П. В. Сергеев и др., Бюлл. эксп. биол., т. 10, 48 (1973). <sup>3</sup> Б. С. Касавина, П. В. Сергеев, Н. Б. Чеснокова, Бюлл. эксп. биол., т. 9, 47 (1972). <sup>4</sup> А. И. Гагелъганс, Г. А. Гайдина и др., В кн.: Тиреоидные гормоны, 1972, стр. 93. <sup>5</sup> E. W. Sutherland, G. A. Robinson, R. W. Butcher, Circulation, v. 37, 247 (1968). <sup>6</sup> S. B. Barber, Physiol. Res., v. 31, 205 (1951). <sup>7</sup> E. Gruenstein, J. Wynn, Theoret. Biol., v. 26, 342 (1970). <sup>8</sup> Sio-Ta, Kano-Jey Ho et al., Proc. Soc. Expt. Biol. and Med., v. 142, 2, 607 (1973). <sup>9</sup> Б. С. Касавина, В. М. Пангуелева, Вестн. офтальмол., т. 2, 7 (1969). <sup>10</sup> E. Edward Bitter, In: Cell Biology in Medicine, 1973, p. 247. <sup>11</sup> C. De Duve, R. Wattiaux, M. Wibo, Biochem. Pharmacol., v. 9, 97 (1962). <sup>12</sup> A. M. Symons, D. A. Lewis, R. J. Anoull, Biochem. Pharmacol., v. 18, 2581 (1969). <sup>13</sup> D. V. Arya, J. Mannagh, A. Ray Irvine, Invest. Ophthal., v. 11, 8, 662 (1972).