

УДК 577.15.024+612.433.451+612.434.012+612.015.11

БИОХИМИЯ

В. И. КУЛИНСКИЙ, В. В. ИВАНОВ

ВЛИЯНИЕ МЕЖКЛЕТОЧНЫХ РЕГУЛЯТОРОВ РАЗНЫХ КЛАССОВ НА ФЕРМЕНТАТИВНОЕ ВОССТАНОВЛЕНИЕ ДИСУЛЬФИДОВ (ФЕНОМЕН И ВОЗМОЖНЫЙ МЕХАНИЗМ)

(Представлено академиком С. Е. Севериным 3 II 1976)

Гормональная регуляция тиол-дисульфидного обмена не известна (1). Только недавно обнаружена стимуляция катехоламинами, серотонином и циклическим 3',5'-АМФ дисульфидредуктазного фермента цитозоля (ДСР) и высказана гипотеза о возможной биологической роли этого явления (2-4). Естественным следствием этой гипотезы было предположение, что и другие межклеточные регуляторы могут активировать ДСР. Однако подобные сведения отсутствовали. Это и определило проведение настоящей работы.

Реализация влияния катехоламинов на ДСР через систему 3',5'-АМФ — протеинкиназа (2-4) побудила к изучению механизма действия и других гормонов.

Опыты проведены на 42 белых крысах-самцах, весом 150—200 г. Регуляторы инкубировали с гомогенатами или надосадочной жидкостью органов при 30° в присутствии 1 мМ теофиллина: гистамин, лизин-вазо-

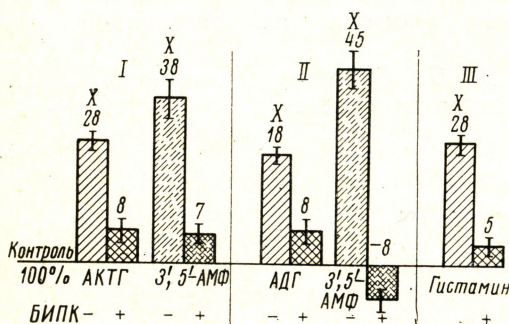


Рис. 1

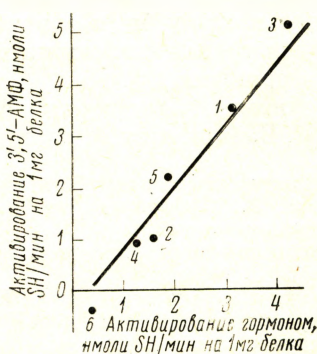


Рис. 2

Рис. 1. Влияние БИПК на стимуляцию дисульфидредуктазной активности гормонами и 3',5'-АМФ в цитозоле органов крыс. Числа над столбиками — изменение активности фермента (%) в надосадочной жидкости при инкубации с регуляторами без БИПК (минус) и на его фоне (плюс). Концентрации указаны в табл. 1. I — надпочечники; II — мозговой слой почки; III — головной мозг. X — достоверно отличается от контроля ($P < 0,05$)

Рис. 2. Взаимосвязь стимулирующих влияний гормонов и 3',5'-АМФ на дисульфидредуктазную активность в различных органах крыс. По оси абсцисс — прирост активности под влиянием гормонов, по оси ординат — прирост активности в тех же тканях под влиянием 3',5'-АМФ. 1 — печень (норадреналин); 2 — головной мозг (гистамин); 3, 4 — надпочечники (АКТГ); 5, 6 — мозговой слой почки (лизин-вазопрессин); 4, 6 — эффекты на фоне белкового ингибитора протеинкиназы. $r = 0,96$, $y = 1,2x - 0,4$

Влияние гормонов и циклического 3',5'-аденозинмонофосфата (3',5'-АМФ) на скорость ферментативного восстановления дисульфидного субстрата в органах крыс

Серия	Концентрация, М	Орган	Прирост активности	
			нмол. SH в 1 мин. на 1 мг белка	%
Гистамин	10^{-6}	Желудок	$1,3 \pm 0,5^a$ (6)	11
Гистамин	10^{-6}	Головной мозг	$1,0 \pm 0,4^a$ (6)	21
3',5'-АМФ	10^{-6}	Головной мозг	$1,6 \pm 0,3^b$ (6)	33
Гистамин+3',5'-АМФ	10^{-6}	Головной мозг	$0,4 \pm 0,3$ (6)	7
	10^{-6}			
АКТГ	10^{-9}	Надпочечники	$4,3 \pm 0,9^a$ (6)	33
3',5'-АМФ	10^{-6}	Надпочечники	$5,2 \pm 0,5^a$ (6)	38
АКТГ+3',5'-АМФ	10^{-9}	Надпочечники	$-0,7 \pm 1,3$ (7)	7
	10^{-6}			
АДГ	10^{-7}	Почка (мозговой слой)	$1,9 \pm 0,6^a$ (6)	39
3',5'-АМФ	$5 \cdot 10^{-6}$	Почка (мозговой слой)	$2,2 \pm 0,3^a$ (6)	39
АДГ+3',5'-АМФ	10^{-7}	Почка (мозговой слой)	$0,0 \pm 0,8$ (6)	0
	$5 \cdot 10^{-6}$			

Примечание. Гормоны инкубировались с гомогенатами, а 3',5'-АМФ — с надосадочной жидкостью органов. Значимость различий с контролем обозначалась: а — $P < 0,05$; б — $P < 0,01$. Результаты комбинированных серий сравнивали с собственным эффектом гормона. В скобках указано количество опытов.

прессин (АДГ) и 3',5'-АМФ — в течение 10 мин.; АКТГ* — 30 мин. Ферментативную активность определяли по ^(3, 4) и выражали в нмолях SH в 1 мин. на 1 мг белка. Белок определяли по Лоури. Белковый ингибитор протеинкиназы (БИПК) получали из скелетных мышц кролика по ⁽⁵⁾ до третьего этапа включительно и вносили в пробу 11–21 мкг/мл перед добавлением ферментного препарата.

Полученные результаты представлены в табл. 1. Очевидно, что инкубация межклеточных регуляторов с гомогенатами органов давала очень четкий эффект: гистамин активизирует ДСР в головном мозге и желудке. АКТГ — в надпочечниках и АДГ — в мозговом слое почки. Инкубация 3',5'-АМФ с надосадочной жидкостью вызывала аналогичный по выраженности и направленности эффект во всех этих тканях. Однако после инкубации гомогенатов органов с межклеточными регуляторами воздействие 3',5'-АМФ уже не давало дополнительного активирования фермента. Это показывает, что стимуляция ДСР реализуется одним и тем же механизмом. Естественно думать, что все исследуемые в данной работе регуляторы действуют через этот циклический нуклеотид, как уже хорошо показано для других эффектов данных гормонов ⁽⁶⁾.

Специфический БИПК нацело снимал эффекты гистамина, АКТГ, АДГ и 3',5'-АМФ в надосадочной жидкости соответствующих органов (рис. 1), но не обладал собственным эффектом ($P > 0,3$). Это подтверждает значение 3',5'-АМФ для действия гормонов, поскольку ингибируемая этим белком протеинкиназа является 3',5'-АМФ-специфичной ⁽⁵⁾. Отметим также, что между эффектами гормонов и 3',5'-АМФ в той же самой ткани как без БИПК, так и на его фоне существует тесная корреляция (r соответственно равен 0,95 и 0,99; по всем опытам r равен 0,96, $P < 0,01$) (рис. 2). В уравнении регрессии $b = 1,2 \pm 0,18$, что не отличается ($P > 0,3$) от теоретического значения 1,0, которое должно наблюдаться ввиду одинаковой размерности и градуировки переменных. Это является еще одним свидетельством в пользу единого механизма действия межклеточных регуляторов к 3',5'-АМФ.

* АКТГ — адренокортикотропный гормон.

С другой стороны, полная блокада БИПК эффекта всех гормонов является важным аргументом в пользу активации ДСР одной и той же протеинкиназой. Хорошо известна видовая и тканевая неспецифичность этого фермента ⁽⁵⁾. Наши результаты согласуются с тем, что протеинкиназа опосредует стимуляцию гистамином карбоангидразы в желудке ⁽⁷⁾, стероидогенный эффект АКТГ в надпочечниках ⁽⁸⁾, антидиуретический эффект АДГ в почках ⁽⁹⁾.

В целом полученные данные показывают, что гормональная регуляция тиол-дисульфидного обмена может рассматриваться как общая закономерность, во всяком случае она характерна для 5 межклеточных регуляторов двух разных классов (из трех): пептидов и производных аминокислот. Следовательно, сложная система активирования ДСР характерна не только для внутри- ⁽⁴⁾, но и для внеклеточных регуляторов. Естественно предположить значение активации ДСР для реализации физиологических эффектов многих гормонов. Снятие БИПК эффекта 3',5'-АМФ не только в печени ⁽⁴⁾, но и в головном мозге, надпочечниках и почке (настоящая работа) дает все основания считать, что протеинкиназный механизм участвует в активации ДСР в большинстве или даже во всех тканях организма.

Выражаем искреннюю благодарность Ю. В. Наточину за предоставление лизин-вазопрессина фирмы «Sandoz» (Швейцария), Ю. А. Панкову — за предоставление кристаллического АКТГ и Р. И. Берсимбаеву — за предоставление кристаллического гистамина фирмы «Serva» (ФРГ).

Красноярский государственный
медицинский институт

Поступило
12 I 1976

ЛИТЕРАТУРА

- ¹ P. Jocelyn, Biochemistry SH groups, London, 1972. ² В. И. Кулинский, В. В. Иванов, ДАН, т. 213, № 6, 1439 (1973). ³ В. И. Кулинский, В. В. Иванов, Пробл. эндокринол., т. 20, 6, 56 (1974). ⁴ В. И. Кулинский, Л. С. Колесниченко, Вopr. мед. хим., т. 21, 3, 286 (1975). ⁵ D. Walsh, C. Ashby et al., J. Biol. Chem., v. 246, 7, 1977 (1971). ⁶ G. Robison, Cyclic AMP and Cell Function, Ann. N. Y. Acad. Sci. U.S.A., v. 185, 1971. ⁷ Р. И. Салганик, С. В. Ареутинская и др., Биохимия, т. 38, 1, 174, (1973). ⁸ G. Gill, Metabolism, v. 21, 6, 571 (1972). ⁹ J. Schwartz, L. Shultz et al., Proc. Nat. Acad. Sci. U.S.A., v. 71, 7, 2595 (1974).