

ПРО ВПЛИВ ГІДРОКОРТИЗОНУ НА АКТИВНІСТЬ МОНОАМІНОКСИДАЗИ ТА ВМІСТ КАТЕХОЛАМІНІВ У ДЕЯКИХ ОРГАНАХ КРОЛИКІВ

О. М. Баликіна, В. Я. Кононенко, Л. В. Кравцова, Л. М. Давиденко
Лабораторія обміну речовин Київського інституту ендокринології та обміну речовин

У вивченні механізму дії гормонів кори надниркових залоз важливе значення має з'ясування взаємовідношення їх з іншими гормонами та нейрогуморальними факторами [6], зокрема катехоламінами — адреналіном і норадреналіном, які мають властивості гормонів мозкового шару надниркових залоз, а також беруть безпосередню участь у процесах медіації в центральній і периферичній нервовій системі.

Питання про функціональну взаємодію між кортикостероїдами та катехоламінами описане в літературі [17, 19 та ін.], але в цих працях розглядались, переважно, фізіологічні та фармакологічні аспекти проблеми.

Останнім часом доведений [1, 2, 10, 11] вплив кортикостероїдів на деякі аспекти обміну катехоламінів і, отже, постало питання про вивчення взаємодії між цими гормонами на рівні їх обміну. Але праць, що безпосередньо стосуються біохімічних питань взаємодії між названими гормональними системами, в літературі обмаль.

Ми вивчали характер впливу гідрокортизону на активність моноаміноксидази — одного з важливих ферментів катаболізму біогенних амінів та порівнювали її активність з вмістом катехоламінів у деяких органах кроликів.

Методика досліджень

Для визначення в тканинах вмісту катехоламінів (КА) — адреналіну (АД) та норадреналіну (НА) був використаний флюоресцентно-аналітичний метод Осинської [8]. Вміст КА розраховували у вигляді тканинної концентрації — в надниркових залозах в мкг/мг , в інших тканинах — в $\text{мкг}\%$.

Активність МАО (моноамін: O_2 -оксидоредуктаза, дезамінуюча, КФ 1. 4. 3. 4) визначали кількома методами.

А. Спектрофотометричним методом Гріна та ін. [12]. Принцип методу полягає в тому, що семікарбазон, який виникає при окисленні субстрату тираміну за допомогою МАО в присутності залишка семікарбазиду, може легко перетворюватись на 2-4 динітрофенілгідрозон. Активність ферменту визначали в умовних одиницях (величини екстинкції $\times 1000$), пропорціональних кількості 2-4 динітрофенілгідрозону, утвореного при інкубації 100 мг сирової тканини з 1 мг тираміну, при рН 7,4, температурі 37°С за 30 хв .

Б. Манометричним методом, за яким активність моноаміноксидази визначали в мкл поглиненого кисню на 1 мг білка мітохондрій при інкубації проби при 37°С за одну годину.

В. Одночасно з кількістю поглиненого кисню визначали й кількість звільненого під час реакції аміаку методом ізотермічної відгонки за Конвеєм. Активність ферменту визначали в мкг аміаку на 1 мг білка за тих же умов.

Подібні зіставлення активності МАО, визначеної різними методами, дають деяку змогу [5] скласти уявлення про можливе перетворення моноамінів й іншими шляхами, крім окисного дезамінування, зокрема по шляху хіноїдного їх обміну.

Білок визначали методом Лоурі [18]. Було проведено чотири серії дослідів на 70 кроликах-самцях вагою від 1,8 до 2,0 кг . І серія — контрольні тварини, яким вводили

фізіологічний розчин. II серія — тваринам одноразово в вену вводили гідрокортизон з розрахунку 5 мг/кг. Вміст КА та МАО в цій серії дослідів визначали через 6 год після введення гормону. III серія — при одноразовому введенні тваринам у вену гідрокортизону в дозі 5 мг/кг вміст КА і МАО визначали через 24 год після ін'єкції гормону. IV серія — багаторазове введення тваринам гідрокортизону по 10 мг на тварину щодня протягом 16—29 днів. У наших дослідах використовувався препарат гідрокортизону фірми «Ріхтер».

Вміст КА визначали в печінці, нирках, серці, аорті та надниркових залозах під дослідних тварин. Одночасно з визначенням КА в гомогенатах цих органів та частково в мітохондріях, одержаних методом диференціального центрифугування, досліджували активність МАО.

Одержані експериментальні дані оброблені статистично за методом Монцевічюте-Ерінгене [7].

Результати досліджень та їх обговорення

За одержаними даними, у контрольних тварин найбільша активність МАО щодо субстрату тираміну в печінці та нирках, найменша — в серці (табл. 1, 2).

Таблиця 1

Вплив гідрокортизону на активність моноаміноксидази в деяких органах кроликів
(метод Гріна та Хофтона, 1961, досліди на гомогенатах, активність МАО в спектрофотометричних одиницях на 100 мг сирої тканини, $M \pm m$)

Серії дослідів	Печінка	Нирки	Серце	Аорта	Надниркові залози
Контроль	543±50 (9)	558±60 (6)	92±20 (11)	198±80 (9)	426±20 (12)
Через 6 год після введення гідрокортизону	513±30 (9)	627±70 (6)	76±20 (9)	150±20 (9)	415±20 (9)
Через 24 год після введення гідрокортизону	606±40 (10)	534±80 (10)	132±10 (10) $p\% 9$	169±20 (10)	313±20 (9) $p\% < 0,2$
Багаторазове введення гідрокортизону	345±70 (9)	562±40 (9)	106±20 (9)	189±10 (8)	314±20 (7) $p\% = 0,2$

Примітка. Цифрами в дужках позначена кількість дослідів.

Ці результати збігаються з даними Калімана [5], який також встановив, що МАО печінки та нирок — більш активна, ніж інших органів.

В усіх досліджених органах (крім надниркових залоз) у контрольних тварин вміст НА був більшим, ніж АД. В надниркових залозах НА визначали в невеликій кількості (не більше 8—12% від суми АД та НА) лише у деякої частини піддослідних тварин. АД не завжди можна було визначити в інших досліджуваних тканинах контрольних кроликів. Так, у нирках зовсім не виявлено адреналіну, а в печінці, серці, аорті його можна було визначити лише в 12—40% випадків. Ейлер [14—16], Мак-Гудал [13] також повідомляли, що в серцевому м'язі зокрема, адреналін можна виявити лише в 30% випадків.

Результати проведених досліджень свідчать про те, що чіткої закономірності між активністю МАО та вмістом КА у різних органах контрольних тварин нема (табл. 3).

Під впливом гідрокортизону (табл. 3) через 6 та 24 год після введення відзначено достовірне зниження вмісту НА в печінці (14,2 і 16,6 мкг% замість 35,8 мкг% у контролі). Змін активності МАО печінки (табл. 1, 2) після введення гормону жодним із застосованих нами методів знайти не вдалось.

Таблиця 2

Вплив гідрокортизону на активність мітохондріальної
моноаміноксидази в деяких органах кроликів ($M \pm m$)

Метод дослідження	Печінка	Нирки	Серце
I серія (контроль)			
Манометричний (за кількістю поглиненого кисню)	$7,8 \pm 0,6$ (15)	$6,7 \pm 0,6$ (14)	$2,3 \pm 0,2$ (8)
За кількістю звільненого аміаку	$8,5 \pm 0,8$ (5)	$7,3 \pm 0,7$ (5)	$2,1 \pm 0,3$ (4)
II серія (через 6 год після введення гідрокортизону)			
Манометричний (за кількістю поглиненого кисню)	$7,8 \pm 0,7$ (6)	$9,3 \pm 0,9$ (6) $p\% = 2$	$2,5 \pm 0,6$ (4)
За кількістю звільненого аміаку	$11,8 \pm 2,1$ (6)	$9,1 \pm 2,1$ (6)	$2,5 \pm 0,5$ (4)
III серія (через 24 год після введення гідрокортизону)			
Манометричний (за кількістю поглиненого кисню)	$9,2 \pm 0,8$ (11)	$7,0 \pm 0,6$ (10)	$2,2 \pm 0,2$ (9)
За кількістю звільненого аміаку	$9,8 \pm 0,8$ (11)	$7,1 \pm 0,7$ (11)	$2,4 \pm 0,7$ (4)

Активність MAO нирок ймовірно підвищується через 6 год після введення гідрокортизону, що спостерігалось при визначенні мітохондріальної MAO нирок (табл. 2).

НА в надниркових залозах при багаторазовому введенні гормона визначали частіше, ніж у контролі. Статистично вірогідним було збільшення вмісту АД в надниркових залозах при введенні гідрокортизону (0,687 замість 0,440 мкг/мг у контролі). Активність MAO в надниркових залозах через 24 год після одноразового та багаторазового введення гідрокортизону знижувалась (відповідно 313 та 314 одиниць замість 426 одиниць у контролі, див. табл. 1).

Вміст НА в аорті через 6 год після введення гідрокортизону зменшувався (40,5 замість 155 $\text{мкг}\%$ в контролі), а при введенні кортико-

Таблиця 3

Вплив гідрокортизону на вміст катехоламінів у деяких органах кроликів
(адреналін в надниркових залозах в мкг/мг , норадреналін в усіх інших органах в $\text{мкг}\%$, $M \pm m$)

Серія дослідів	Печінка	Нирки	Серце	Аорта	Надниркова залоза
Контроль	$35,8 \pm 7,5$ (16)	$21,2 \pm 3,2$ (7)	$100,0 \pm 10,7$ (16)	$155,0 \pm 9,0$ (15)	$0,440 \pm 0,02$ (12)
Через 6 год після введення гідрокортизону	$14,2 \pm 2,1$ (9) $p\% = 0,9$	$24,4 \pm 5,9$ (9)	$111,8 \pm 16,1$ (10)	$40,5 \pm 8,8$ (10) $p\% < 0,1$	$0,355 \pm 0,11$ (8)
Через 24 год після введення гідрокортизону	$16,6 \pm 4,0$ (8) $p\% = 1,4$	$30,7 \pm 5,1$ (8)	$119,4 \pm 10,0$ (7)	$101,0 \pm 36,3$ (7)	$0,513 \pm 0,05$ (7) $p\% = 0,05$
Багаторазове введення гідрокортизону	$22,3 \pm 6,7$ (7)	$26,9 \pm 3,9$ (8)	$73,5 \pm 14,9$ (8)	$244,8 \pm 5,4$ (6) $p\% = 0,9$	$0,687 \pm 0,05$ (6) $p\% < 0,05$

стероїда дрібними дозами — збільшувався (244,8 мкг %, табл. 3). Подібні за напрямком зміни в аорті були встановлені і для АД. В активності МАО аорти змін при цьому не виявлено.

При зіставленні одержаних результатів про вплив гідрокортизону на активність МАО та на вміст КА, не завжди можна було відзначити відповідний паралелізм між змінами цих показників. У наших дослідах спостерігались адекватні зміни їх лише в надниркових залозах, де поряд зі зниженням активності МАО збільшувався вміст АД та НА. Можливо, що в даному випадку збільшення НА, який є кращим порівняно з АД субстратом МАО [5], пов'язане зі зменшенням активності цього ферменту. Приріст кількості АД в надниркових залозах під впливом введеного гідрокортизону обумовлений, напевно, активацією його біосинтезу, зокрема, стимулюванням процесу метилювання НА і перетворенням його на АД. В літературі є дані про те [20, 21], що глюкокортикоїди активують фенілетаноламін-N-метилтрансферазу, а інгібітори біосинтезу кортикостероїдів, зокрема, метапірон гальмують цей фермент, внаслідок чого в першому випадку виявляється збільшення, а в другому — зменшення кількості АД в надниркових залозах. Отже, гадають, що глюкокортикоїди можуть впливати на деякі ферментативні ланки біосинтезу, а також перетворення КА, що безумовно, треба враховувати при розгляді питання про взаємодію між гормонами обох частин надниркових залоз. Останні факти, а також те, що гіпофізектомія приводить до зменшення перетворення НА в АД, а АКТГ у гіпофізектомованих тварин нормалізує цей процес, дало підставу [21] стверджувати, що гіпофіз бере участь не лише в регуляції функції кори надниркових залоз, а й посередньо мозкового шару його. Результати наших експериментів відносно впливу гідрокортизону на КА надниркових залоз підтверджують ці погляди.

Однак, ймовірно, що вплив кортикостероїдів на КА може відбуватися й іншими шляхами. Крім МАО кортикостероїди мабуть, можуть впливати й на інші ферментативні системи, пов'язані з перетворенням КА.

Про це свідчать наші дані, що вміст НА в печінці, аорті після одноразового введення гідрокортизону зменшується, при тривалому введенні гідрокортизону вміст КА в аорті збільшується, а в м'язі серця АД не визначається, активність же МАО при цьому залишається без змін.

Про інші механізми впливу кортикостероїдів на вміст КА свідчать також дані Ручкіної [9] про те, що при повторному введенні кортизону активність МАО залишається такою ж, як у контрольних тварин, а при введенні АКТГ автор відзначила деяку тенденцію до зниження активності цього ферменту в печінці та в мозку. Водночас вміст НА в серці та мозку після згаданих дій зменшується.

Ці дані дають підставу припустити, що зміни вмісту КА в тканинах залежать не тільки від можливого впливу стероїдів на МАО, а також від інших факторів, тобто впливу на ферменти, які беруть участь у синтезі КА та їх обміні за хіноїдним шляхом та за шляхом О-метилювання.

Висновки

1. Вміст норадреналіну в печінці через 6 та 24 год після введення гідрокортизону зменшується.
2. В надниркових залозах через 24 год після введення гідрокортизону активність моноаміноксидази знижується. При тривалому введенні гормона, поряд зі зниженням активності моноаміноксидази, збільшується вміст адреналіну та норадреналіну.

3. В аорті відзначається зменшення вмісту катехоламінів при одноразовому введенні гідрокортизону та збільшення їх кількості при тривалому введенні гормона без істотних змін активності моноаміноксидази.

Література

1. Барц М. П.—Пробл. эндокринол. и гормонотер., 1960, 6, 61.
2. Барц М. П.—В сб.: Труды Укр. ин-та экспер. эндокрин., Харьков, 1961, 18, 210.
3. Горкин В. З.—Вестник АМН СССР, 1962, 9, 28.
4. Горкин В. З.—Журн. Всес. хим. об-ва им. Менделеева, 1964, 9, 4, 405.
5. Калиман П. А.—Роль моноаминоксидазы митохондрий в превращении пирокатехинаминов и других биогенных аминов в тканях животного организма. Автореф. дисс. докт., Харьков, 1966.
6. Комиссаренко В. П.—В кн.: Рук. по патол. физиол., М., «Медицина», 1966, 4, 166.
7. Монцевичюте-Эрингене Е. С.—Патол. физиол. и экспер. терапия, 1964, 4, 71.
8. Осинская В. О.—Биохимия, 1957, 22, 537.
9. Ручкина А. С.—Влияние кортизона на некоторые стороны обмена катехоламинами. Автореф. дисс. канд., Харьков, 1967.
10. Утевский А. М.—В кн.: Физиол. и патол. эндокрин. системы, Харьков, 1965, 478.
11. Утевский А. М.—В кн.: Механизм действия гормонов, К., 1959, 27.
12. Green A., Haughton T.—Biochem. J., 1961, 78, 1, 171.
13. McGoodal C.—Acta physiol. scand., 1951, 24, 5.
14. Euler U.—J. Physiol., 1946, 105, 38.
15. Euler U.—Acta physiol. scand., 1956, 11, 168.
16. Euler U., Franksson C., Hellstrom J.—Acta physiol. scand., 1954, 31, 6.
17. Ingle D.—Pediatric, 1952, 17, 407.
18. Lowry O., Rosebrough N., Farr A., Randall R.—Journ. Biol. Chem., 1951, 193, 1.
19. Ramey E., Goldstein E.—Physiol. Rev., 1957, 37, 155.
20. Roffi J.—Compt. Rend. Soc. Biol., 1965, 159, 7, 1495.
21. Wurtman R., Axelrod J.—Science, 1965, 150, 1464.

Надійшла до редакції
15.X 1969 р.

ON THE EFFECT OF HYDROCORTISONE ON MONOAMINE OXIDASE ACTIVITY AND CATECHOLAMINE CONTENT IN SOME ORGANS OF RABBITS

E. M. Balykina, V. Ya. Kononenko, L. V. Kravtsova, L. M. Davidenko

*Laboratory of Metabolism, Research Institute of Endocrinology and Metabolism,
Ministry of Public Health, Ukrainian SSR, Kiev*

Summary

Some data are presented concerning the adrenaline and noradrenaline content and monoamine oxidase activity in the liver, kidneys, heart, aorta and adrenals of rabbits 6 and 24 hours after single and long-term administration of hydrocortisone.

The content of noradrenaline in the liver decreased 6 and 24 hours after administration of the hormone. 24 hours after hydrocortisone administration the activity of monoamine oxidase in the adrenals decreased. Long-term administration of the hormone showed a decrease in the monoamine oxidase activity and at the same time an increase in the adrenaline content.

Noradrenaline amount was higher than it was normally observed. A decrease in the adrenaline and noradrenaline content was found in the aorta with a single administration of hydrocortisone and an increase in their content—with a long-term administration of this hormone.

Comparison of the monoamine oxidase activity and content of catecholamines in the tissues after both a single and long-term administration of hydrocortisone under given conditions of investigation not always permitted the parallelism between the indices studied to be observed.