

ВПЛИВ АДРЕНАЛЕКТОМІЇ НА АКТИВНІСТЬ АРГІНАЗИ ТКАНИН МОЗКУ, ПЕЧІНКИ ТА СКЕЛЕТНОГО М'ЯЗА

В. С. Лусенко, О. А. Бойко

Відділ ендокринології Інституту фізіології ім. О. О. Богомольця АН УРСР, Київ

Гормони кори надниркових залоз помітно впливають на обмін азоту в головному мозку, що проявляється як при введенні кортико-стероїдів, так і після видалення залоз.

У адреналектомованих тварин змінюється вміст аміаку, глутаміну, глутамінової та гамма-аміномасляної кислот [8, 9, 10, 12, 34], а також активність ферментів переамінування [20] та глутаміназна активність [14]. Встановлено, що у адреналектомованих тварин вміст сечовини в тканині мозку значно збільшений [10, 12].

Основним органом, в якому здійснюється біосинтез сечовини, є печінка. Але велика кількість літератури свідчить про наявність сечовини та деяких ферментів циклу Кребса — Гензеляйте і в інших органах ссавців [3, 4, 5, 7, 8, 9, 29, 30, 31]. Останнім часом все більше уваги привертає аргіназа (КФ 3.5.3.1), що каталізує гідролітичне утворення сечовини з аргініну [4, 5, 15, 25, 30, 31].

Оскільки високий рівень сечовини в крові та тканинах є однією з характерних ознак надниркової недостатності [12, 33], в наше завдання входило визначення активності аргінази в тканині печінки, головного мозку та скелетного м'яза у адреналектомованих щурів для з'ясування походження сечовини, яка нагромаджується в організмі таких тварин.

Методика досліджень

Досліди проведені на 46 щурах-самцях вагою 150—200 г на шостий-сьомий та 15—16-й дні після двобічної одномоментної адреналектомії. Контрольними були інтактні тварини. Щоб виключити вплив сезонних та кормових факторів на активність ферментів тканин та склад крові, піддослідних та контрольних тварин досліджували одночасно в кожному експерименті. Щурів умертвляли відсіканням голови. Про ступінь надниркової недостатності судили за вмістом сечовини в крові. Активність аргінази визначали в гомогенатах півкуль мозку, печінки та скелетного м'яза модифікованим нами методом Брауна та ін. [24]. Суть модифікації полягає в спрощенні методики, використанні більш доступних реактивів та впровадженні контролю на реактиви. Кінцевий продукт реакції — сечовину — визначали за Баркером [23]. Про аргіназну активність судили за простом сечовини (в мкм), яка утворилась при інкубації в термостаті з температурою 37° С на протязі 30 хв під впливом ферменту, що міститься в 1 г сироватки тканини. Кількість сечовини в крові визначали за Баркером [23] і виражали в мг% азоту сечовини. Одержані дані оброблені методом варіаційної статистики за Ойвінім [19].

Результати досліджень та їх обговорення

Проведені дослідження по вивченню аргіназної активності в тканинах мозку, печінки та скелетного м'яза показали, що у всіх досліджених тканинах інтактних щурів аргіназа виявлена. Ступінь її актив-

ності різний — у печінці він коливається між 90,07 та 154,19 мкм сечовини (утвореної за 30 хв інкубації при 37° С), в мозку, в таких же умовах, активність аргінази перебуває в межах 3,16—4,36, а в м'язі — в межах 18,48—19,03 мкм. Отже, аргіназа печінки в 40 разів, а аргіназа скелетного м'яза в три-чотири рази активніша, ніж мозку.

На рис. 1 наведені дані досліджень, одержаних на інтактних та адреналектомованих щурах, досліджених на шостий-сьомий дні після видалення надниркових залоз. Як видно з рис. 1, вміст сечовини в крові адреналектомованих щурів збільшився майже в три рази: у інтактних щурів рівень її (за азотом сечовини) становить 13,31 мг%, а у адре-

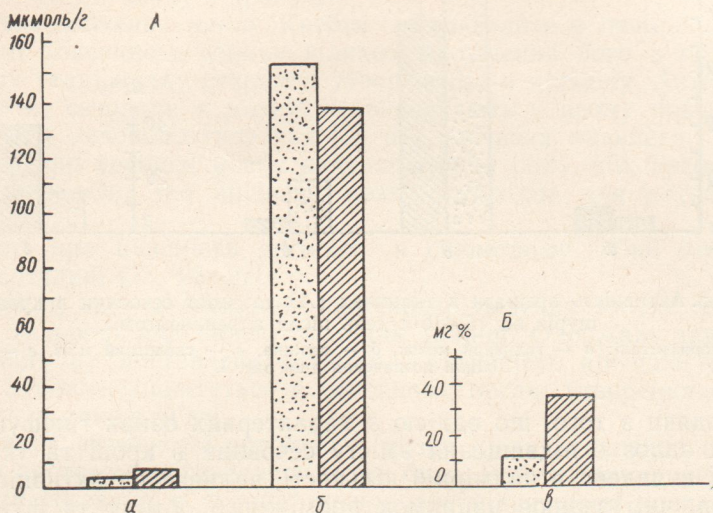


Рис. 1. Активність аргінази в тканинах (А) та вміст сечовини в крові (Б) щурів на шостий-сьомий день після адреналектомії.

По горизонталі: а — головний мозок, б — печінка, в — кров. Стовпчики з крапками — контроль, заштриховані навсід — дослід.

налектомованих — 36,94 мг%. При цьому активність аргінази в печінці зменшилась на 14,26 мкм сечовини, тобто на 9,24% порівняно з контрольними тваринами. Активність аргінази в тканині мозку щурів після видалення надниркових залоз у цій серії досліджень збільшується з 3,16 до 8,94 мкм сечовини порівняно з інтактними щурами, тобто на 150%.

Результати досліджень, одержані в серії дослідів на щурах через 15—16 днів після адреналектомії, наведені на рис. 2, з якого видно, що спрямованість змін активності аргінази в досліджених тканинах така ж, як і у тварин на шостий-сьомий дні після видалення надниркових залоз. А саме, в печінці аргіназа пригнічується, а в мозку — активується, в скелетному м'язі, як і в печінці, пригнічується. Фактичні дані такі: активність аргінази мозку в цій серії дослідів у інтактних щурів становить 4,36, а у адреналектомованих — 8,57 мкм, тобто активність аргінази підвищилась порівняно з контролем на 96,50% ($p < 0,01$). В печінці активність аргінази інтактних щурів становить 90,07 мкм сечовини, тобто знижується на 11,4% при $p < 0,05$. Аргіназна активність скелетного м'яза у інтактних щурів дорівнює 19,03 мкм, у адреналектомованих — 6,17 мкм, тобто зменшилась на 12,86 мкм сечовини, або на 67,50% порівняно з контролем, де $p < 0,01$. Вміст сечовини в крові адреналектомованих щурів на 15—16-й дні після

операції дорівнює 39,68 мг% азоту сечовини, а у інтактних — 15,15 мг%, тобто майже в три рази вищий, що свідчить про виражену недостатність надниркових залоз у ці строки після їх видалення.

Наші дані про пригнічення аргінази в печінці тварин з видаленими наднирковими залозами узгоджуються з результатами, одержаними іншими дослідниками [25, 28]. Відомостей про активність аргінази в мозку та скелетному м'язі у таких тварин в літературі нема.

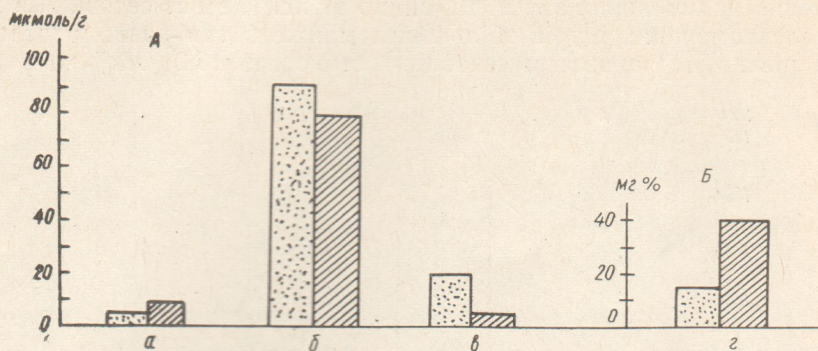


Рис. 2. Активність аргінази в тканинах (А) та вміст сечовини в крові (Б) щурів на 15—16-й день після адrenaлектомії.

По горизонталі: а — головний мозок, б — печінка, в — скелетний м'яз, г — кров. Інші позначення див. рис. 1.

Виходячи з того, що однією з характерних ознак гіпофункції надниркових залоз є підвищення вмісту сечовини в крові та тканинах, а сечовина, виявлена в надмірній кількості, впливає на активність різних ферментів, чим змінює напрямок проміжного обміну та функціональний стан збуджуваних тканин [16, 18], нами була проведена серія дослідів з навантаженням сечовиною. Піддослідними тваринами були кролики, яким у вену вводили сечовину з розрахунку 1 г/кг. В таких умовах концентрація сечовини в крові досягала рівня її у адrenaлектомованих тварин. Через годину після ін'єкції тварин забивали, і в мозку, печінці та скелетному м'язі визначали активність аргінази.

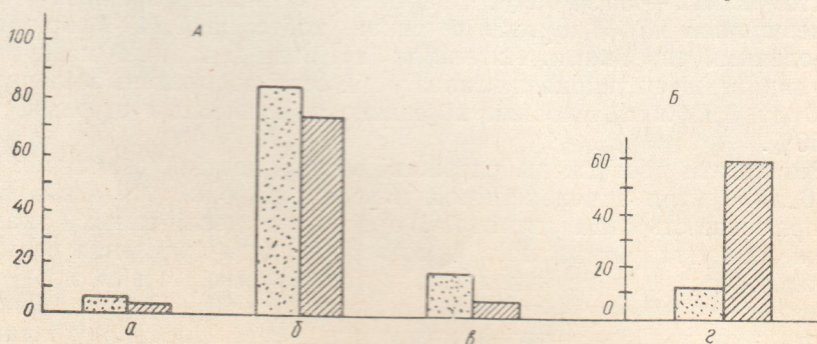


Рис. 3. Активність аргінази (мкмоль/г) в тканинах (А) та вміст сечовини (мг%) в крові (Б) кроликів після внутрішньовенного введення сечовини (1 г/кг).

Умовні позначення див. рис. 2.

Одержані результати наведені на рис. 3, з якого видно, що вміст сечовини в крові після навантаження збільшився з 12,20 до 59,90 мг% (за азотом), при цьому активність аргінази в усіх досліджених тканинах зменшилась: в мозку з 4,20 до 3,11 мкм, в печінці — з 86,25 до

76,51 мкм, в м'язі — з 18,48 до 5,99 мкм сечовини. Ці дані дають підставу вважати, що вміст сечовини в крові є одним з факторів, що беруть участь у регуляції активності аргінази — ферменту, що каталізує утворення сечовини.

Проте підвищення активності аргінази в мозку адреналектомованих щурів, мабуть, не можна вважати ознакою, характерною для всіх ступенів надниркової недостатності, оскільки збільшення вмісту сечовини в крові після введення у вену кроликів цього метаболіту до рівня вдвоє вищого, ніж середні показники вмісту його в крові адреналектомованих щурів (відповідно 59,90 та 36,94—39,68 мг%), пригнічувало активність аргінази мозку у кроликів.

Біологічне значення циклу Кребса — Гензеляйте в печінці полягає в інактивації токсичного аміаку шляхом включення його в обмін, де на кінцевому етапі циклу сечовина утворюється з аргініну. Автори, які вивчали синтез сечовини в мозку, не визначають у ньому повного добору ферментів сечовиноутворення [3], але аргіназа виявлена. Давтян [6] припускає, що аргіназі мозку належить інша роль, ніж аргіназі печінки. Ми вважаємо, що аргіназа мозку необхідна для катаболізму аргініну.

Відомості про наявність аргінази в скелетному м'язі інтактних тварин суперечливі [25, 26, 27].

Ми вивчали одну з можливих причин збільшення вмісту сечовини в тканинах та крові адреналектомованих тварин. Одержані дані дали чітку відповідь на поставлене питання — активність аргінази не підвищується, а навіть знижується в основному органі утворення сечовини — печінці, а також м'язі.

Підвищення активності аргінази в мозку після видалення надниркових залоз протягом якогось часу може бути, мабуть, причиною збільшення вмісту сечовини в тканині мозку, але підвищення концентрації цього метаболіту в крові зумовлено іншими причинами. Не виключена можливість зниження екскреції сечовини нирками при наднирковій недостатності [22, 32], проте наші досліді (неопубліковані дані В. С. Луценко) вказують на нормальне, або навіть збільшене виведення сечовини з сечею адреналектомованих кроликів на протязі доби. Можливо, що у адреналектомованих тварин порушується зв'язок сечовини з білками, на що вказують дані про більш інтенсивне утворення сечовини при автолізі тканин мозку, печінки та м'яза у тварин з видаленими наднирковими залозами [13]. Принципова можливість утворення сечовини з комплексів «білок — сечовина» доведена дослідженнями Гершеновича та його співробітниками [1].

Отже, результати проведених досліджень свідчать про те, що активність основного ферменту сечовиноутворення — аргінази — в печінці та м'язі адреналектомованих тварин не тільки не підвищується, а навіть пригнічується, хоч у мозку дещо активується. Це вказує на органну специфічність функції цього ферменту.

Підвищений вміст сечовини в крові тварин після видалення надниркових залоз може бути одним з факторів, що беруть участь у регуляції активності аргінази в тканинах.

Висновки

1. Активність аргінази у щурів визначається не тільки в печінці, але і в екстрагепатичних тканинах — головному мозку та скелетному м'язі.
2. Видалення надниркових залоз у щурів супроводжується підвищенням вмісту сечовини в крові.

3. Активність аргінази у адреналектомованих щурів в печінці та скелетному м'язі знижується, а в мозку підвищується, тобто спостерігається органна специфічність аргінази на виключення гормонів надниркових залоз.

4. Підвищення вмісту сечовини в крові щурів після адреналектомії відбувається не за рахунок активації сечовиноутворення з аргініну.

5. Екзогенна сечовина пригнічує аргіназу з мозку, печінки і особливо в скелетному м'язі кроликів.

Література

1. Агафонова И. М., Кричевская А. А., Гершеневич З. С.—ДАН СССР, 1966, 168, 2, 456.
2. Блинов В. А.—Пробл. эндокринолог., 1968, 5, 96.
3. Бунятян Г. Х., Давтян М. А.—Вопросы биохимии мозга, Ереван, 1964, 1, 105.
4. Бунятян Г. Х., Давтян М. А.—Биохим. и функция нервн. сист., Л., 1967, 78.
5. Гершеневич З. С., Кричевская А. А., Шугалей В. С.—ДАН СССР, 1964, 157, 2, 464.
6. Давтян М. А.—Вопросы биохим. мозга, Ереван, 1967, III, 273.
7. Златин Р. С., Валуева Т. К., Ройтуб Б. А., Лусенко В. С., Мавская И. П., Клименко К. С., Левченко М. Н.—В сб.: Физиол. и патол. высш. нервн. деят., К., 1965, 49.
8. Комиссаренко В. П.—Пробл. эндокринолог., 1963, 3, 111.
9. Комиссаренко В. П., Лусенко В. С.—В кн.: I Всес. биохим. съезд (симп.), М.—Л., 1963, 170.
10. Комиссаренко В. П., Лусенко В. С.—В кн.: Физиол. и патол. эндокрин. желез, Харьков, 1964, 132.
11. Комиссаренко В. П., Лусенко В. С.—В кн.: I Укр. біохім. з'їзд, Чернівці, 1965, 188.
12. Лусенко В. С.—В сб.: Гормоны и головной мозг, К., 1968, 62.
13. Лусенко В. С., Василенко А. В.—В кн.: VIII з'їзд Укр. фізіол. тов-ва, Львів, 1968, 308.
14. Лусенко В. С., Хильчевская Р. И., Ивашкевич А. А.—В сб.: Физиол., биохим. и патол. эндокрин. желез, Харьков, 1969, 182.
15. Лусенко В. С., Клименко К. С., Бойко О. А., Хильчевская Р. И.—В кн.: XI съезд Всес. физиол. об-ва им. И. П. Павлова, Л., 1970, 2, 320.
16. Манухин Б. Н.—Физиол. адренорецепторов, Л., 1968, 168.
17. Медведева Н. Б.—Экспер. эндокринолог., К., 1946, 384.
18. Насонов Д. Н., Александров В. Л.—Реакция живого вещества на внешн. воздейств., М.—Л., 1940, 252.
19. Ойвин И. А.—Патол. физиол. и экспер. терапия, 1960, 4, 76.
20. Пикулев А. Т., Воскобоев А. И., Коняева М. П., Пейзина Л. К., Ткач В. М., Черногузов В. М.—В сб.: Гормоны и головной мозг, К., 1968, 67.
21. Протасова Т. Н.—Успехи соврем. биол., 1964, XXXVIII, вып. 2 (5), 190.
22. Пучков Н. В., Краснов В. В.—1927. Цит. за [21].
23. Barker S.—J. Biol. Chem., 1944, 152, 2, 452.
24. Brown G., Cohen P.—J. Biol. Chem., 1959, 234, 7, 1769.
25. Greengard O., Sahib Maharaj K., Knox W.—Arch. Biochem. a. Biophys., 1970, 137, 2, 477.
26. Greenstein J., Jenrette W., Mider G., White J.—J. Nat. Cancer Inst., 1941, 1, 687.
27. Greenstein J., Leuthardt T.—J. Nat. Cancer Inst., 1946, 6, 317.
28. Kochakian C., Vail V.—J. Biol. Chem., 1947, 169, 1.
29. Mephan T., Linzell J.—Nature, 1967, 214, 507.
30. Ratner S., Morell H., Carvalhto—Arch. of Biochem. a. Biophys., 1960, 91, 280.
31. Sporn M., Dingman W., Defalco A., Davies R.—Nature, 1959, 183, 4674, 1520.
32. Wells B., Kendall E.—1940, цит. за [2].
33. Will—Цит. за [17].
34. Woodbury D.—Pharmac. Rev., 1958, 10, 2, 275.