

УДК: 577.152.1:57.044:612.453

ИЗУЧЕНИЕ НЕКОТОРЫХ ПОКАЗАТЕЛЕЙ СТЕРОИДОГЕНЕЗА В НАДПОЧЕЧНИКАХ КРЫС ПРИ ВВЕДЕНИИ ХЛОРИДА КОБАЛЬТА И ХЛОРИДА РТУТИ

Г.В.Ганусова

Харьковский национальный университет имени В.Н.Каразина (Харьков, Украина)

Исследовано влияние хлоридов кобальта и ртути на содержание микросомальных и митохондриальных цитохромов P-450 и b₅, а также на активность цитоплазматических NADP-зависимых дегидрогеназ в надпочечниках крыс. Установлено, что содержание микросомальных и митохондриальных цитохромов P-450 и b₅ снижалось после 7-кратного введения CoCl₂. Через сутки после введения HgCl₂ обнаружено повышение содержания митохондриальных цитохромов P-450 и b₅ и снижение содержания микросомального цитохрома P-450; такая же направленность изменений сохранялась после 3-кратного введения соли. Активности NADP-зависимых дегидрогеназ не изменялись при 1- и 7-кратном введениях CoCl₂. Однако, после 1-кратного введения HgCl₂ наблюдалось повышение активности глюкозо-6-фосфатдегидрогеназы и 6-фосфоглюконатдегидрогеназы, NADP-малатдегидрогеназа и изоцитратдегидрогеназа не изменялись.

Ключевые слова: *кора надпочечников, стероидогенез, хлорид кобальта, хлорид ртути, цитохром P-450, цитохром b₅, NADP-зависимые дегидрогеназы.*

Введение

Стероидные гормоны коры надпочечников у крыс синтезируются из холестерина через стадию образования прегненолона в ходе последовательных реакций, которые протекают в митохондриальной или микросомальной фракциях (Юдаев и др., 1976). Важную роль в процессе стероидогенеза играют цитохром P-450-зависимые гидроксилазы, катализирующие реакции с участием молекулярного кислорода и NADPH (Porter, Coop, 1991). При стимуляции коры надпочечников гипофизарным аденокортикотропным гормоном (АКТГ) происходит транспорт холестерина в митохондрии и активация цитохрома P-450_{sc}, который катализирует отщепление боковой цепи холестерина (Мари и др., 1993). Далее образовавшийся прегненолон превращается в прогестерон и подвергается гидроксигированию по положению C-21 микросомальным цитохромом P-450_{21α}. Следующее гидроксигирование (по C-11) при участии митохондриального цитохрома P-450_{11β} приводит к образованию кортикостерона, обладающего глюкокортикоидной активностью. Важную роль в процессе стероидогенеза играет микросомальный цитохром b₅, участвующий в передаче второго электрона в цитохром P-450_{21α} и P-450_{17α} гидроксилазных реакциях (Komipani et al., 1992). В коре надпочечников осуществляется также гидроксигирование по C-17 и C₁₇₋₂₀-лиазная реакция при участии микросомального цитохрома P-450_{17α} в процессе синтеза предшественников андрогенов – дегидроэпандростерона и андростендиона (Baker, 2002).

Ионы тяжелых металлов и металлов с переменной валентностью, количество которых растет в окружающей среде, могут активировать процессы свободно-радикального окисления и нарушать функционирование коры надпочечников (Sunderman, 1986; Nishiyama, Nakamura, 1984b). Кроме этого, имеются данные о том, что в опытах *in vitro* при инкубации клеток коры надпочечников с ионами металлов происходит нарушение биосинтеза кортикостероидов (Colby et al., 1987). Однако, мало известно о молекулярных механизмах действия ионов металлов, в том числе хлоридов кобальта и ртути, на процесс синтеза кортикостероидов в коре надпочечников крыс.

В связи с этим целью данной работы явилось изучение влияния CoCl₂ и HgCl₂ на содержание цитохромов P-450 и b₅ в микросомах и митохондриях, а также цитоплазматических NADPH-генерирующих ферментов надпочечников: глюкозо-6-фосфатдегидрогеназы (КФ 1.1.1.49), 6-фосфоглюконатдегидрогеназы (КФ 1.1.1.44), NADP-малатдегидрогеназы (декарбоксилирующей оксалоацетат) (КФ 1.1.1.40) и NADP-изоцитратдегидрогеназы (КФ 1.1.1.42).

Объекты и методы исследования

В работе использовали крыс-самок линии Wistar массой 180–220 г. CoCl₂ и HgCl₂ растворяли в 0,9% NaCl и вводили внутривентриально из расчета 3 мг/100 г и 0,7 мг/100 г массы, соответственно. Контрольным животным вводили физиологический раствор. Крыс декапитировали под легким эфирным наркозом через 24 часа после однократного или семикратного (один раз в сутки) введения CoCl₂, а также после однократного или трехкратного (один раз в сутки) введения HgCl₂. Надпочечники извлекали из 4-х крыс, отделяли от жира и гомогенизировали в среде, содержащей 0,25 М сахарозу, 0,01 М трис-НС1 (pH 7,4). Митохондриальную и микросомальную фракции получали методом дифференциального

центрифугирования. Супернатант использовали как фракцию цитозоля. Содержание цитохромов P-450 и b₅ в митохондриях и микросомах надпочечников определяли методом дифференциальной спектрофотометрии по методу (Omura, Sato, 1964) с помощью спектрофотометра «Specord UV VIS» и выражали в нмоль/мг белка. NADPH-генерирующие ферменты определялись в цитозольной фракции надпочечников. Активность глюкозо-6-фосфатдегидрогеназы и 6-фосфоглюконатдегидрогеназы определяли по методу Глок и Мак-Лин в модификации (Bottomley et al., 1963), активность NADP-малатдегидрогеназы – по методу Очоа в модификации (Усатенко, Цончева, 1974), NADP-изоцитратдегидрогеназы – по методу Плаут и Санг, как описано (Bauman et al., 1970). Интенсивность образования NADPH регистрировали на спектрофотометре СФ-46 при 340 нм. Активность NADPH-генерирующих ферментов выражали в нмоль NADPH/мин на мг белка. Содержание белка определяли методом Лоури в модификации (Miller, 1959) и выражали в мг/мл.

Результаты и обсуждение

Согласно полученным результатам (табл. 1), у контрольных животных содержание митохондриального цитохрома P-450 примерно в 2 раза превышает содержание микросомального цитохрома P-450 коры надпочечников, что согласуется с данными литературы (Veltman, Maines, 1986a).

Таблица 1.

Содержание микросомальных и митохондриальных цитохромов P-450 и b₅ (нмоль/мг белка) в надпочечниках крыс после однократного и повторного введения CoCl₂ (M±m, n=5–10)

Цитохромы	Контроль	CoCl ₂	
		однократно	семикратно
Микросомы			
P-450	1,22±0,03	1,29±0,03	0,90±0,04*
b ₅	0,65±0,02	0,64±0,05	0,54±0,02*
Митохондрии			
P-450	2,1±0,08	2,4±0,09	1,28±0,09*
b ₅	0,28±0,01	0,25±0,02	0,17±0,01*

* – $p < 0,05$ по отношению к контролю

Установлено, что содержание микросомальных цитохромов P-450 и b₅ не изменялось после однократного и снижалось после семикратного введения CoCl₂ на 26% и 17%, соответственно. Однако, содержание митохондриального цитохрома P-450 незначительно повышалось после однократного и резко снижалось после семикратного введения CoCl₂ на 39%; содержание митохондриального цитохрома b₅ снижалось после семикратного введения CoCl₂ на 40%.

При введении HgCl₂ (таблица 2) содержание микросомального цитохрома P-450 снижалось уже через 24 часа на 26% и оставалось сниженным после трехкратного введения соли.

Таблица 2.

Содержание микросомальных и митохондриальных цитохромов P-450 и b₅ (нмоль/мг белка) в надпочечниках крыс после однократного и повторного введения HgCl₂ (M±m, n=5–10)

Цитохромы	Контроль	HgCl ₂	
		однократно	трехкратно
Микросомы			
P-450	1,23±0,03	0,91±0,06*	1,06±0,06*
b ₅	0,60±0,03	0,52±0,02	0,51±0,03
Митохондрии			
P-450	1,98±0,11	3,02±0,18*	2,52±0,15*
b ₅	0,27±0,02	0,52±0,06*	0,40±0,03*

* – $p < 0,05$ по отношению к контролю

Микросомальный цитохром b₅ не изменялся при этом воздействии. Однако, содержание митохондриального цитохрома P-450 повышалось через сутки после однократного введения HgCl₂ на 53% и оставалось повышенным после трехкратного введения соли. Содержание митохондриального цитохрома b₅ имело сходную направленность изменений при введении HgCl₂.

Наиболее высокий уровень активности среди изучаемых NADP-зависимых дегидрогеназ в цитозоле надпочечников крыс (табл. 3 и 4) принадлежит глюкозо-6-фосфатдегидрогеназе и 6-фосфоглюконатдегидрогеназе. Эти результаты согласуются с представлениями о том, что основными

поставщиками NADPH в цитозоле клеток надпочечников являются ферменты окислительной части пентозофосфатного пути – глюкозо-6-фосфатдегидрогеназа и 6-фосфоглюконатдегидрогеназа (Юдаев, 1976). При введении CoCl_2 (табл. 3) активность NADP-зависимых дегидрогеназ не изменялась, за исключением повышения активности изоцитратдегидрогеназы после семикратного введения на 30%. Однако, при введении HgCl_2 (табл. 4) активность глюкозо-6-фосфатдегидрогеназы и 6-фосфоглюконатдегидрогеназы повышалась после однократного введения на 33% и 38% соответственно, и нормализовалась после трехкратного введения соли. Активности NADP-малатдегидрогеназы и NADP-изоцитратдегидрогеназы не изменялись при этом воздействии.

Таблица 3.

Активность глюкозо-6-фосфатдегидрогеназы, 6-фосфоглюконатдегидрогеназы, NADP-малатдегидрогеназы и NADP-изоцитратдегидрогеназы (нмоль NADPH/мг белка за 1 мин.) в цитозоле надпочечников крыс после однократного и повторного введения CoCl_2 ($M \pm m$, $n=5-10$)

Фермент	Контроль	CoCl_2	
		однократно	семикратно
Г6ФДГ	201,7±10,5	185,5±8,9	170,8±11,1
6ФГДГ	112,3±6,45	120,6±8,2	93,1±5,1
МДГ	60,2±4,1	52,6±4,4	50,4±4,8
ИЦДГ	44,6±2,8	36,3±3,8	58,0±2,8*

* – $p < 0,05$ по отношению к контролю

Таблица 4.

Активность глюкозо-6-фосфатдегидрогеназы, 6-фосфоглюконатдегидрогеназы, NADP-малатдегидрогеназы и NADP-изоцитратдегидрогеназы (нмоль NADPH/мг белка за 1 мин.) в цитозоле надпочечников крыс после однократного и повторного введения HgCl_2 ($M \pm m$, $n=5-10$)

Фермент	Контроль	HgCl_2	
		однократно	трехкратно
Г6ФДГ	197,9±10,2	262,6±11,8 *	227,6±9,4
6ФГДГ	109,7±7,2	151,2±11,3 *	127,3±7,9
МДГ	61,3±4,4	69,1±4,4	57,0±3,0
ИЦДГ	40,5±4,8	45,4±5,2	30,3±2,9

* – $p < 0,05$ по отношению к контролю

Данные литературы свидетельствуют о том, что соли тяжелых металлов могут изменять метаболизм цитохрома P-450 в коре надпочечников крыс (Veltman, Maines, 1986a). Молекулярные механизмы, с помощью которых металлы могут влиять на процесс стероидогенеза в коре надпочечников крыс, по-видимому, включают как прямое действие ионов металлов на надпочечники, так и опосредованное – через регуляцию секреции АКТГ. Известно, что митохондрии надпочечников могут активно накапливать двухвалентные катионы (Simpson, Williams-Smith, 1975). Согласно данным (Veltman, Maines, 1986b), в митохондриях и микросомах надпочечников крыс концентрация ионов Cu^{2+} повышалась примерно в 2–3 раза через сутки и продолжала нарастать к 7 суткам эксперимента, при этом в митохондриях наблюдалось накопление продуктов перекисного окисления липидов и снижение концентрации цитохрома P-450. В первые сутки поступление ионов Co^{2+} в надпочечники может приводить к активации перекисного окисления липидов и, одновременно, антиоксидантной защиты клетки, например, супероксиддисмутазной активности (Ljutaketa et al., 1984). В связи с этим содержание микросомальных и митохондриальных цитохромов P-450 и b_5 сохранялось на уровне контроля. Однако, к 7 суткам аккумуляция ионов Co^{2+} , по-видимому, приводит к истощению антиоксидантной защиты клетки, увеличению образования органических гидроперекисей липидных компонентов мембран, изменению фосфолипидного окружения, инактивации и деградации цитохромов P-450 и b_5 . В этих условиях наблюдалось незначительное снижение активности глюкозо-6-фосфатдегидрогеназы (на 15%), которая также может модифицироваться альдегидными продуктами перекисного окисления липидов (Friguet et al., 1994).

В данной работе наблюдаемое повышение содержания митохондриальных цитохромов P-450 и b_5 и некоторых NADP-генерирующих ферментов при введении HgCl_2 , возможно, связано с увеличением уровня АКТГ. Известно, что синтез глюкокортикоидов коры надпочечников находится под контролем гипофизарного АКТГ (Теппермен, Теппермен, 1989; Потемкин, 1999). Возможно, ионы металлов могут участвовать в регуляции освобождения АКТГ из молекулы предшественника – проопиомеланокортина в передней доле гипофиза. Клеточный механизм действия АКТГ запускается путем аденилатциклазного

механизма передачи сигнала, увеличения концентрации цАМФ, притока ионов Ca^{2+} и реализуется на транскрипционном уровне (Waterman, 1994; Gallo-Pauet, Pauet, 2003). При этом увеличивается пул свободного холестерина в цитозоле (за счет гидролиза эфиров холестерина или синтеза *de novo*), стимулируется его транспорт в митохондрии и связывание с цитохромом P-450_{sc} на внутренней мембране митохондрий (Privalle et al., 1987). Реакция, катализируемая цитохромом P-450_{sc} гидроксилазой, является скоростью-лимитирующей всего процесса синтеза глюкокортикоидов в коре надпочечников. При стимуляции коры надпочечников АКТГ увеличивается также транспорт глюкозы через плазматическую мембрану клеток, происходит активация окисления глюкозо-6-фосфата в пентозофосфатном шунте и увеличивается пул NADPH для реакций гидроксирования стероидов (Теппермен, Теппермен, 1989). В литературе имеются данные о том, что через 24 часа после обработки АКТГ культуры адренокортикальных клеток быка увеличивается мобилизация холестерина, концентрация как митохондриального, так и микросомального цитохромов P-450, активность цитохрома P-450_{sc}. Синтез NADPH-цитохром P-450 редуктазы и цитохрома P-450_{21α} также активируется АКТГ, однако индукция микросомальных ферментов не координируется с митохондриальными (Waterman, 1982). В работе (Nishiyama, Nakamura, 1984b) было показано, что при хроническом введении Cd^{2+} (7 суток, 2 раза в сутки) у крыс наблюдалась стимуляция синтеза ДНК и РНК, увеличение концентрации общего белка и веса надпочечников, при этом происходило изменение секреции АКТГ и значительное снижение синтеза кортикостерона. В нашей работе через сутки после введения HgCl_2 наблюдалось увеличение содержания только митохондриальных цитохромов P-450 и b₅, что может свидетельствовать об активации в основном реакции превращения холестерина в прегненолон при участии холестеролдесмолазы (цитохром P-450_{sc}).

С другой стороны, после однократного введения HgCl_2 снижение содержания микросомального цитохрома P-450 коры надпочечников может быть вызвано повреждением нативной структуры данного гемопротейна. Известно, что ионы ртути нарушают внутриклеточный гомеостаз тиолсодержащих соединений (Muller, Saenger, 1993), вызывают снижение концентрации восстановленного глутатиона в печени и почках (Chung et al., 1982). Ранее было показано, что цитохром P-450 относится к семейству гем-тиоловых ферментов (Ravichandran et al., 1993). В активном центре различных изоферментов цитохрома P-450 содержится гем-хелатирующий остаток цистеина (Dus, 1982), который может непосредственно связываться с ионами ртути. Такое связывание, в свою очередь, может приводить к ингибированию формирования холоцитохрома P-450, а затем – к частичной денатурации и деградации гемопротейна (Clarkson, Marsh, 1982). Согласно данным (Brogan et al., 1983), при инкубации с ионами Fe^{2+} микросом надпочечников морских свинок отмечено снижение концентрации микросомального цитохрома P-450, вызванное высоким уровнем продуктов перекисного окисления липидов в цитозоле надпочечников. В работе (Maines, Trakshel, 1992) показано, что длительное (по 2 раза в сутки в течение недели) введение Sn-протопорфирина приводит к значительному угнетению микросомальной 21α-гидроксилазной и митохондриальной 11β-гидроксилазной активностей надпочечников крыс, а также – к снижению уровня кортикостерона в крови. Через сутки после введения ионов Hg^{2+} обнаружено снижение концентрации общего гема и содержания микросомального цитохрома P-450, которое вызвано повышением активности гемоксигеназы надпочечников крыс и приводит к ингибированию цитохром P-450_{21α} – гидроксилазной реакции (Veltman, Maines, 1986a). Кроме этого, в опытах *in vitro* при добавлении ионов Cd^{2+} к клеткам коры надпочечников морских свинок показано дозозависимое снижение 21α-гидроксилазной активности и повышение 17α-гидроксилазной, 17, 20-лиазной активностей, что свидетельствует об увеличении образования предшественников тестостеронов – дегидроэпиандростерона и андростендиона (Colby et al., 1987). При введении ионов Cd^{2+} *in vivo* (2 раза в сутки в течение недели) обнаружено значительное снижение концентрации кортикостерона и увеличение альдостерона в сыворотке крови крыс (Nishiyama, Nakamura, 1984a). Следует отметить, что кортикостерон и кортизон обладают слабыми прооксидантными свойствами (Mooradian, 1993), а дегидроэпиандростерон секретируется надпочечниками при активации перекисного окисления липидов (Brignardello et al., 2000) и обладает выраженными антиоксидантными свойствами. В условиях развития оксидативных повреждений в различных тканях (Aksoy et al., 2003; Aragno et al., 2002) предварительное введение дегидроэпиандростерона приводит к снижению концентрации продуктов перекисного окисления липидов, активации ферментов антиоксидантной защиты – супероксиддисмутазы, каталазы и глутатионпероксидазы.

Таким образом, избыточное поступление в организм солей тяжелых металлов, в том числе CoCl_2 и HgCl_2 , может приводить к изменению активности стероидогенных ферментов в митохондриях и микросомах коры надпочечников, нарушению синтеза глюкокортикоидов и увеличению промежуточных метаболитов стероидогенеза – дегидроэпиандростерона и андростендиона в плазме крови. При развитии оксидативного стресса важную роль в процессе адаптации организма играют механизмы антиоксидантной защиты, одним из которых, вероятно, является частичное переключение стероидогенеза в коре надпочечников на путь синтеза дегидроэпандростерона.

Список литературы

- Марри Р., Греннер Д., Мейес П., Родуэлл В. Биохимия человека. – М.: Мир, 1993. – Т. 2. – С. 205–221.
- Потемкин В.В. Эндокринология. – М.: Медицина, 1999. – С. 471–480.
- Теппермен Дж., Теппермен Х. Физиология обмена веществ и эндокринной системы. Вводный курс. – М.: Мир, 1989. – С. 317–372.
- Усатенко М.С., Цончева А.В. Влияние инсулиновой недостаточности и гидрокортизона на активность НАДФ- и НАД-зависимых малатдегидрогеназ в печени и коре почек крыс // *Вопр. мед. химии.* – 1974. – Т.20, №4. – С. 401–406.
- Юдаев Н.А., Афиногенова С.А., Булатов А.А. и др. Биохимия гормонов и гормональной регуляции. – М.: Наука, 1976. – С. 171–227.
- Aksoy Y., Yapanoglu T., Aksoy H. et al. The effect of dehydroepiandrosterone on renal ischemia-reperfusion-induced oxidative stress in rabbits // *Urol. Res.* – 2003. – Vol.125. – P.57.
- Aragno M., Mastrocola R., Brignardello E. et al. Dehydroepiandrosterone modulates nuclear factor-kappa B activation in hippocampus of diabetic rats // *Endocrinology.* – 2002. – Vol.143, №9. – P. 3250–3258.
- Baker M.E. Recent insights into the origins of adrenal and sex steroid receptors // *J. Molecular Endocrinology.* – 2002. – Vol.28. – P. 149–152.
- Bauman D.E., Brown R.E., Davis C.L. Pathways of fatty acid synthesis in mammary gland of rat, sow and cow // *Arch. Biochem. Biophys.* – 1970. – Vol.140, №1. – P. 237–244.
- Bottomley R.H., Pilot H.C., Potter V.R., Morris H.P. Metabolic adaptations in rat hepatomas. Reciprocal relationship between threonine dehydrase and glucose-6-phosphate dehydrogenase // *Canc. Res.* – 1963. – Vol.23, №1. – P. 400–409.
- Brignardello E., Gallo M., Aragno M. et al. Dehydroepiandrosterone prevents lipid peroxidation and cell growth inhibition induced by high glucose concentration in cultured rat mesangial cells // *J. Endocrinol.* – 2000. – Vol.166, №2. – P. 401–406.
- Brogan W.C., Miles P.R., Colby H.D. Effects of lipid peroxidation on adrenal microsomal monooxygenases // *Biochim. Biophys. Acta.* – 1983. – Vol.758, №2. – P. 144–120.
- Chung A.S., Maines M.D., Reynolds W.A. Inhibition of the enzymes of glutathione metabolism by mercuric chloride in the rat kidney: reversal by selenium // *Biochem. Pharmacol.* – 1982. – Vol.31, №19. – P. 3093–3100.
- Clarkson T.W., Marsh D.O. *Clinical, Biochemical and Nutritional Aspects of Trace Elements.* – New York, 1982. – P. 549–568.
- Colby H.D., Pope M.R., Johnson P.B., Sherry J.H. Effect of cadmium in vitro on microsomal steroid metabolism in the inner and outer zones of the guinea pig adrenal cortex // *J. Biochem. Toxicol.* – 1987. – Vol.2. – P. 1–11.
- Dus K.M. Insights into active site of the cytochrome P-450 haemoprotein family – a unifying concept based on structural considerations // *Xenobiotica.* – 1982. – Vol.12, №11. – P. 745–772.
- Friguet B., Stadtman E.R., Szweda L.I. Modification of glucose-6-phosphate dehydrogenase by 4-hydroxy-2-nonenal // *J. Biol. Chem.* – 1994. – Vol.269, №34. – P. 21639–21643.
- Gallo-Pauet N., Pauet M.D. Mechanism of action of ACTH: beyond cAMP // *Microsc. Res. Tech.* – 2003. – Vol.61, №3. – P. 275–287.
- Kominami S., Ogawa N., Morimune R. et al. The role of cytochrome b5 in adrenal microsomal steroidogenesis // *J. Steroid. Biochem. Mol. Biol.* – 1992. – Vol.42, №1. – P. 57–64.
- Ljutakova S.G., Russanov E.M., Liochev S.I. Copper increases superoxide dismutase activity in rat liver // *Archs. Biochem. Biophys.* – 1984. – Vol.235, №2. – P. 636–643.
- Maines M.D., Trakshel G.M. Tin-protoporphyrin: a potent inhibitor of hemoprotein-dependent steroidogenesis in rat adrenals and testes // *J. Pharmacol. Exp. Ther.* – 1992. – Vol.260, №2. – P. 909–916.
- Miller G.L. Protein determination for large number of samples // *Anal. Chem.* – 1959. – Vol.31, №5. – P. 964–966.
- Mooradian A.D. Antioxidant properties of steroids // *J. Steroid. Biochem. Mol. Biol.* – 1993. – Vol.45, №6. – P. 509–511.
- Muller A., Saenger W. Studies on the inhibitory action of mercury upon proteinase K // *J. Biol. Chem.* – 1993. – Vol.268, №35. – P. 26150–26154.
- Nishiyama S., Nakamura K. Effect of cadmium on plasma aldosterone and serum corticosterone concentration in male rats // *Toxicol. Appl. Pharmacol.* – 1984. – Vol.76, №3. – P. 420–425. (a)
- Nishiyama S., Nakamura K. Stimulation of adrenal DNA synthesis in cadmium-treated male rats // *Toxicol. Appl. Pharmacol.* – 1984. – Vol.74. – P. 337–344. (б)
- Omura T., Sato R. The carbon monoxide-binding pigment of liver microsomes // *J. Biol. Chem.* – 1964. – Vol.239, №7. – P. 2379–2385.
- Porter T.D., Coon M.J. Cytochrome P-450. Multiplicity of isoforms, substrates, and catalytic and regulatory mechanisms // *J. Biol. Chem.* – 1991. – Vol.266, №21. – P. 13469–13472.
- Privalle C.T., McNamara B.C., Dhariwal M.S., Jefcoate C.R. ACTH control of cholesterol side-chain cleavage at adrenal mitochondrial cytochrome P-450_{sc}. Regulation of intramitochondrial cholesterol transfer // *Molecular and Cellular Endocrinology.* – 1987. – Vol. 53, № 1–2. – P. 87–101.

- Ravichandran K.G., Boddupalli S.S., Hasemann C.A. Crystal structure of hemoprotein domain of P450 BM-3, a prototype for microsomal P450s. // *Science*. – 1993. – Vol.261. – P. 731–736.
- Simpson E.R., Williams-Smith D.L. Effect of calcium (ion) uptake by rat adrenal mitochondria on pregnenolon formation and spectral properties of cytochrome P-450 // *Biochim. Biophys. Acta*. – 1975. – Vol.404, №2. – P. 309–320.
- Stasey N.H., Kappas H. Cellular toxicity and lipid peroxidation in response to mercury // *Toxicol. Appl. Pharmacol.* – 1982. – Vol.63, №1. – P. 29–35.
- Sunderman F.W., Jr. Metals and lipid peroxidation // *Acta Pharmacol. Toxicol.* – 1986. – Vol.59. Suppl. №7. – P. 248–255.
- Veltman J.C., Maines M.D. Alterations of heme, cytochrome P-450, and steroid metabolism by mercury in rat adrenal // *Arch. Biochem. Biophys.* – 1986. – Vol.248, №2. – P. 467–478. (а)
- Veltman J.C., Maines M.D. Regulatory effect of copper on rat adrenal cytochrome P-450 and steroid metabolism // *Biochemical Pharmacology*. – 1986. – Vol.35, №17. – P. 2903–2909. (б)
- Waterman M.R. ACTH-mediated induction of synthesis and activity of cytochrome P-450s and related enzymes in cultured bovine adrenocortical cells // *Xenobiotica*. – 1982. – Vol.12, №11. – P. 733–786.
- Waterman M.R. Biochemical diversity of cAMP-dependent transcription of steroid hydroxylase genes in the adrenal cortex // *J. Biol. Chem.* – 1994. – Vol.269, №45. – P. 27783–27786.

**ВИВЧЕННЯ ДЕЯКИХ ПОКАЗНИКІВ СТЕРОЇДОГЕНЕЗУ В НАДНИРКОВИХ ЗАЛОЗАХ ЩУРІВ ПРИ
УВЕДЕННІ ХЛОРИДУ КОБАЛЬТУ І ХЛОРИДУ РТУТІ**
Г.В.Ганусова

Досліджено вплив хлоридів кобальту і ртуті на вміст мікросомальних та мітохондріальних цитохромів P-450 і b_5 , а також активність цитоплазматичних NADP-залежних дегідрогеназ у надниркових залозах щурів. Установлено, що вміст мікросомальних і мітохондріальних цитохромів P-450 і b_5 знижувався після 7-кратного уведення $CoCl_2$. Через добу після уведення $HgCl_2$ виявлено підвищення вмісту мітохондріальних цитохромів P-450 і b_5 та зниження вмісту мікросомального цитохрома P-450; така ж спрямованість змін зберігалась після 3-кратного уведення солі. Активності NADP-залежних дегідрогеназ не змінювались при 1- і 7-кратному уведеннях $CoCl_2$. Однак, після 1-кратного уведення $HgCl_2$ спостерігалось підвищення активності глюкозо-6-фосфатдегідрогенази і 6-фосфоглюконатдегідрогенази, NADP-малатдегідрогеназа та ізоцитратдегідрогеназа не змінювались.

Ключові слова: *кора надниркових залоз, стероїдогенез, хлорид кобальту, хлорид ртуті, цитохром P-450, цитохром b_5 , NADP-залежні дегідрогенази.*

**STUDY OF SOME INDICES OF STEROIDOGENESIS IN ADRENAL GLAND OF RATS AFTER
INJECTION OF COBALT CHLORIDE AND MERCURY CHLORIDE**
G.V.Ganusova

Microsomal and mitochondrial cytochrome P-450 and b_5 contents as well as activities of cytosolic NADP-dependent dehydrogenase were investigated in adrenal gland of rats after action of cobalt and mercury chlorides. It was established that microsomal and mitochondrial cytochrome P-450 and b_5 contents decreased after 7-fold injection $CoCl_2$. Mitochondrial cytochrome P-450 and b_5 contents increased and microsomal cytochrome P-450 content decreased in a day after injection $HgCl_2$, the same direction of changes kept after 3-fold injection of salt. Activities NADP-dependent dehydrogenases did not change after 1- and 7-fold injection $CoCl_2$. However, activities of glucose-6-phosphate dehydrogenase and 6-phosphogluconate dehydrogenase increased after single injection $HgCl_2$, NADP-malate dehydrogenase and isocitrate dehydrogenase did not change.

Key words: *adrenal cortex, steroidogenesis, cobalt chloride, mercury chloride, cytochrome P-450, cytochrome b_5 , NADP-dependent dehydrogenase.*

Представлено А.І.Гладковою
Рекомендовано до друку П.А.Каліманом