

В. В. ФРОЛЬКИС, Х. К. МУРАДЯН, Н. М. ТУРАЕВА

ВЛИЯНИЕ ГИДРОКОРТИЗОНА НА МЕМБРАННЫЙ ПОТЕНЦИАЛ И СИНТЕЗ ФРАКЦИЙ РНК КЛЕТОК ПЕЧЕНИ

(Представлено академиком П. Г. Костюком 26 XI 1975)

Циклом наших прошлых работ (¹⁻³) показано, что активация биосинтеза белка в клетке приводит к изменению электрических свойств ее мембраны, к развитию гиперполяризации. Один из возможных экспериментальных подходов изучения механизмов этой взаимосвязи может состоять в сопоставлении сдвигов мембранного потенциала (м. п.) клетки и обновления РНК при активации и подавлении процесса транскрипции. Известно, что глюкокортикоиды, в частности гидрокортизон, в составе белок-стероидного комплекса транспортируются в ядро клетки и, связываясь с определенными структурами хроматина, вызывают стимуляцию синтеза различных фракций РНК (⁴). Это приводит также к росту активности ряда индуцибельных ферментов (⁵). Для установления возможной взаимосвязи между активностью генетического аппарата и электрическими свойствами мембраны крысам в возрасте 8—10 мес. вводили гидрокортизон в дозе 35 мг/кг и определяли в клетках печени сдвиги м. п. (⁶), ионного состава (⁷), обновления фракций РНК (⁸), активность гликозо-6-фосфатазы (⁹), фруктозо-1,6-дифосфатазы (¹⁰). В качестве меченого предшественника РНК была использована 2-¹⁴C-оротовая кислота, которую вводили в дозе 50 мкС/кг за 30 мин. до забоя.

Проведенные опыты показали, что гидрокортизон приводит к выраженной гиперполяризации печеночных клеток. Так, исходная величина м. п. клеток печени $38,3 \pm 0,6$ мв, через 2 часа после введения гормона $45,8 \pm 1,7$ мв, а через 6 час. $48,9 \pm 1,4$ мв. Развивающаяся под действием гидрокортизона гиперполяризация связана с определенными ионными сдвигами. Через 2 часа после введения гормона растет содержание внутриклеточной воды (с 1931 ± 70 до 2582 ± 116 г на 1 кг сухого веса). При пересчете на внутриклеточную воду содержание внутриклеточного калия после введения гидрокортизона падает (с 143 ± 7 до 122 ± 3 мэкв на 1 л внутриклеточной воды), а содержание внутриклеточного натрия растет (от 23 ± 2 до 42 ± 6 мэкв на 1 л внутриклеточной воды). При пересчете на сухой вес возникают иные соотношения — содержание внутриклеточного калия растет (от 271 ± 15 до 313 ± 13 мэкв на 1 кг сухой ткани), а содержание внутриклеточного натрия падает (с 57 ± 5 до 45 ± 9 мэкв на 1 кг сухой ткани). Через 6 час. после введения гидрокортизона содержание внутриклеточного калия начинает снижаться, а натрия и хлора нарастает.

Одновременно с развитием гиперполяризации введение гидрокортизона приводит к росту активности изучаемых ферментов и стимуляции биосинтеза фракций РНК. Через 2 часа после введения гормона наблюдается рост активности фруктозо-1,6-дифосфатазы (186%), который достигает максимального уровня к 5—6 часу (197%) и снижается к 8 часу (121%). Рост активности глюкозо-6-фосфатазы в указанные сроки недостоверен. В ряде работ (^{4, 5, 11}) было показано, что вызванный введением гидрокортизона рост активности ферментов является результатом усиления их синтеза de novo. Об активации генетического аппарата клеток печени под влиянием гидрокортизона свидетельствуют и наши данные об увеличении

удельной радиоактивности (у. р.) и относительной удельной радиоактивности (о. у. р.) фракций РНК (табл. 1, 2). Как видно из этих данных, у. р. цитоплазматической (0—4°), прорибосомальной (40°) и проинформационной (63°) РНК значительно растет уже через 2 часа после введения гидрокортизона и продолжает держаться на высоком уровне в течение всего исследуемого срока. При этом наблюдается 2—3-кратное увеличение у. р. Известно, что у. р. РНК не является однозначным показателем скорости ее синтеза, так как величина последней зависит также от ряда других параметров. Более информативным показателем интенсивности

Таблица 1

Влияние гидрокортизона на удельную радиоактивность фракций РНК печени крыс (имп. на 1 мг РНК в 1 мин.)

Фракции РНК	Контроль	Время после введения гидрокортизона		
		2 часа	4 часа	6 час.
Цитоплазматическая	4572±741	10131±2860	6640±998	6133±1043
Прорибосомальная	13269±2016	26439±4557 *	36002±5050 *	37673±9224 *
Проинформационная	66377±9225	187088±23731 *	159962±30448 *	186629±51567 *

* Сдвиги по сравнению с контролем статистически достоверны ($P<0,05$).

Таблица 2

Влияние гидрокортизона на удельную радиоактивность гомогенатов печени, пула УТФ, относительную удельную радиоактивность фракций РНК

Время после введения гидрокортизона	Удельная радиоактивность, имп. на 1 мг РНК в 1 мин		Относительная удельная радиоактивность фракций		
	гомогенаты печени	пул УТФ	цитоплазматическая	прорибосомальная	проинформационная
Контроль	2070±117	123734±24683	0,045	0,127	0,545
6 час.	2317±222	149913±12870	0,041	0,251	1,245

транскрипции является о. у. р., определяемая отношением у. р. фракций РНК и у. р. пула меченого предшественника (в данном случае УТФ). Проведенные нами анализы показали, что под влиянием гидрокортизона у. р. пула УТФ меняется лишь незначительно (табл. 2). Увеличение у. р. пула УТФ, судя по у. р. гомогенатов печени, скорее всего обусловлено некоторой стимуляцией транспорта меченого продукта в печень. Из-за сравнительно меньших сдвигов у. р. пула УТФ сдвиги о. у. р. фракций РНК в целом мало отличаются от сдвигов соответствующих величин у. р. и характеризуются значительным ростом в ответ на введение гидрокортизона (табл. 2).

Описанные сдвиги уровня поляризации, ионного состава и активности генетического аппарата взаимосвязаны. Об этом свидетельствуют и данные серии опытов с одновременным введением гидрокортизона и актиномицина D. Специфически блокируя ДНК-зависимый синтез РНК, актиномицин D в дозе 150 мг/кг почти полностью снимает вызванный гормоном рост м. п., ионные сдвиги и индукцию ферментов. Так, через 6 час. после одновременного введения гидрокортизона и актиномицина D величина м. п. составляет $40,3\pm 1,0$ мв. Содержание внутриклеточного калия при этом равно 259 ± 13 мэкв/кг, а натрия 68 ± 10 мэкв/кг. Рост активности фруктозо-6-фосфатазы составляет всего 111%, а глюкозо-6-фосфатазы вовсе отсутствует.

Итак, наступающие под влиянием гидрокортизона сдвиги в уровне м. п., ионного состава клеток печени связаны с активацией генетического аппарата, биосинтезом белка. Уровень поляризации клеточной мембраны во многом определяет ее проницаемость, в частности, к нуклеотидам, аминокислотам и т. д. Изменение содержания внутриклеточного K^+ и Na^+ существенно влияет на процессы транскрипции, на сборку молекул белка в рибосомах (¹², ¹³). Есть основания полагать, что развивающаяся сопряженно с активацией генетического аппарата гиперполяризация мембраны клеток является своеобразной обратной связью, воздействующей на процессы биосинтеза белка в клетке.

Научно-исследовательский институт геронтологии
Академии медицинских наук СССР
Киев

Поступило
19 XI 1975

ЛИТЕРАТУРА

- ¹ В. В. Фролькис, В кн.: Регулирование, приспособление и старение, Л., «Наука», 1970.
- ² В. В. Фролькис, О. А. Мартыненко, В. Г. Коротоножкин, Биофизика, т. 17, в. 5, 839 (1972).
- ³ V. V. Frolkis, Experientia, v. 29, 1492 (1973).
- ⁴ Л. Ш. Ганелина, Цитология, т. 17, № 1, 5 (1975).
- ⁵ G. Weber, R. L. Singhal, J. Biol. Chem., v. 239, 521 (1964).
- ⁶ О. Б. Сапоцинска, Е. П. Шуба, Укр. біохім. журн., т. 1, 151 (1965).
- ⁷ П. Г. Костюк, Микроэлектродная техника, Киев, «Наукова думка», 1960.
- ⁸ G. G. Markov, V. J. Arion, Europ. J. Biochem., v. 35, № 1, 186 (1973).
- ⁹ A. Harper, E. Young, Biochem. J., v. 71, 696 (1959).
- ¹⁰ G. Weber, A. Cantero, Cancer Res., v. 1, 763 (1959).
- ¹¹ Fu-Li-Yu, Ph. Feigelson, Biochem. and Biophys. Res. Commun., v. 53, № 3, 754 (1973).
- ¹² N. R. Mahler, In: Advances in Biochemical Psychopharmacology, v. 1, N. Y., 1969, p. 49.
- ¹³ А. С. Спирин, Л. П. Гаврилова, В кн.: Рибосома, М., «Наука», 1972.