

УДК 612.671.111.7.015.31.018.2

О. А. Мартыненко

ДЕЙСТВИЕ ИНСУЛИНА И ГИДРОКОРТИЗОНА НА КОНЦЕНТРАЦИЮ ИОНОВ КАЛИЯ И НАТРИЯ В ЯДЕРНЫХ И БЕЗЪЯДЕРНЫХ КЛЕТКАХ ЭРИТРОЦИТОВ КУР И КРЫС

Значительное количество исследований посвящено изучению особенностей влияния гормонов, и в частности инсулина и гидрокортизона, на активный транспорт ионов. Сопоставление влияния этих двух гормонов интересно в связи с тем, что инсулин, как известно, влияет на метаболические процессы клетки, воздействуя через рецепторы, расположенные на ее мембране [2], а гидрокортизон рецептируется внутри клетки и реализуется в виде изменения внутриклеточного метаболизма, вторично воздействуя на мембрану [1]. Удачным объектом для сопоставления действия этих гормонов являются эритроциты разных животных, поскольку у млекопитающих в токе крови находятся безъядерные эритроциты, а у птиц, рыб, амфибий и рептилий — ядерные. Предполагается, что в ядерных эритроцитах, в отличие от безъядерных, осуществляются процессы биосинтеза белка. Известно, что в клеточной популяции крови птиц происходит синтез РНК и белка [11]. Синтез РНК в ядерных эритроцитах блокируется актиномицином-С [7], который, однако, не влияет на синтез белка. Мы предполагаем, это связано с тем, что наряду с текущим синтезом РНК, блокирующимся АКМ-С, в ядрах эритроцитов существуют более долго живущие РНК, которые могут включаться в синтез белка. По данным Камерона [10], синтез белка в зрелых эритроцитарных клетках происходит перманентно. Сопоставление влияния инсулина и гидрокортизона на концентрацию ионов в ядерных и безъядерных эритроцитах могло бы позволить установить связь между обусловленным действием гормонов транспортом ионов и состоянием биосинтеза белка. Подобная постановка исследований представляется целесообразной в связи с развиваемым представлением [6] о связи процессов биосинтеза белка с электрическими свойствами мембран.

Методика исследований

В соответствии с целями работы были проведены опыты *in vivo* и *in vitro* на 186 крысах и 85 курах. В экспериментах *in vivo* определяли концентрацию ионов калия и натрия в сыворотке и эритроцитах в исходном состоянии и после введения гормонов. Гормоны вводили внутривенно в концентрациях: инсулин — 0,16 ед/100 г, гидрокортизон — 3 мг/100 г. Использованы дозы гормонов, которые на других клетках (перинизированную кровь брали у животных через 1 и 2—3 ч в зависимости от введения гормона). После центрифугирования в течение 1 ч определяли концентрацию K^+ и Na^+ на пламенном фотометре по общепринятой методике [5]. В опытах *in vitro* гепаринизированную цельную кровь курицы или крысы инкубировали в течение определенного времени (1, 2, 3 ч) с гормоном или без него в водяной бане при температуре 40°C для кур и 37°C для крыс. Инсулин добавляли к крови в концентрации 1 ед на 1 мл крови, а гидрокортизон — 2,5 мг на 1 мл крови. Дальнейший ход исследования — центрифугирование и определение ионов — было аналогично описанному для опытов

in vivo. В каждой серии опытов (*in vivo* и *in vitro*) сравнение действия гормонов на какой-то показатель проводили со своей исходной величиной. Все полученные данные обработаны методом вариационной статистики.

Результаты исследований и их обсуждение

Концентрации основных ионов в эритроцитах кур и крыс незначительно отличаются друг от друга. Так, в ядерных эритроцитах кур концентрация K^+ колеблется в пределах 79—82,6, а Na^+ — 24—31 ммоль/л. У крыс же концентрация ионов калия составляет 77—86, а натрия — 22—25 ммоль/л. В экспериментах *in vitro* была проведена серия опытов по изучению действия длительной инкубации (2—3 ч) цельной крови без гормонов на содержание K^+ и Na^+ . Результаты этого исследования показали, что длительная инкубация безъядерных эритроцитов крыс при 37 °C не оказывает влияния на концентрацию ионов калия и натрия. При инкубации же ядерных эритроцитов в течение 3 ч концентрация ионов калия не изменяется, а натрия — достоверно повышается с $24,0 \pm 0,9$ до $30,1 \pm 0,7$ ммоль/л.

Таблица 1

Изменение концентрации K^+ и Na^+ (ммоль/л) в эритроцитах кур и крыс после введения инсулина и гидрокортизона в опытах *in vivo*

Условия опыта	Куры		Крысы	
	K^+	Na^+	K^+	Na^+
Исходное состояние	$79 \pm 3,6$	$31,0 \pm 2,0$	$86,3 \pm 2,0$	$25,1 \pm 1,6$
Инсулин (1 ч)	$90,0 \pm 1,3^*$	$36,3 \pm 2,2$	$83,9 \pm 2,6$	$28,6 \pm 1,5$
Гидрокортизон (2—3 ч)	$84,8 \pm 1,7$	$24,0 \pm 1,8^*$	$82,7 \pm 6,0$	$21,0 \pm 1,8$

* — $p < 0,05$.

Согласно литературным данным, ядерные и безъядерные эритроциты обладают рецепторами к инсулину [12]. Инсулиновые рецепторы различных тканей птиц и млекопитающих фактически идентичны [8]. Однако биологическая роль инсулинового рецептора в этих клетках еще требует дальнейшего изучения. Через мембраны безъядерных эритроцитов свободно проходят стероиды, и характер поглощения стероидных гормонов для этих клеток таков же, как для ядерных клеток [4]. Перечисленные факты свидетельствуют о том, что как ядерные, так и безъядерные эритроциты не индифферентны к инсулину и гидрокортизону.

Внутрибрюшинное введение инсулина и гидрокортизона по-разному влияет на концентрацию ионов калия и натрия в ядерных и безъядерных эритроцитах (табл. 1). Так, в эритроцитах кур наблюдается увеличения калия на 11 ммоль/л через 1 ч после введения инсулина. Концентрация натрия в форменных элементах крови кур под влиянием этого гормона достоверно изменяется. В эритроцитах же крыс инсулин в течение 1 ч не изменяет концентрацию этих ионов (табл. 1).

Подобные данные о влиянии инсулина на распределение ионов получены и в опытах *in vitro*. Так, после 1 ч инкубации цельной крови кур с инсулином концентрация калия в них увеличивается на 18,5 % (табл. 2). Концентрация натрия при этом не изменяется ($27,8 \pm 1,4$ и $25,0 \pm 1,1$ ммоль/л до и после инкубации крови с инсулином). Как

видно из табл. 2, в эритроцитах крысы инкубация крови с инсулином не влияет ни на концентрацию ионов калия, ни натрия.

В серии опытов по изучению влияния гидрокортизона на ионный состав эритроцитов кур показано, что через 2 ч после введения гормона в форменных элементах крови наблюдается достоверное снижение концентрации натрия — с $31,0 \pm 2,0$ до $24,0 \pm 1,8$ ммоль/л (табл. 1). Этот факт подтвержден и в опытах *in vitro* — после 2 ч инкубации цельной крови с гидрокортизоном в эритроцитах кур концентрация натрия снижается на 25 % (табл.2). Концентрация K^+ в эритроцитах несколько увеличивается. Данные о влиянии гидрокортизона на концентрацию ионов калия и натрия в эритроцитах крыс, представленные в табл. 1 и 2, свидетельствуют о том, что у крыс гормон не изменяет этих показателей ни в опытах *in vivo*, ни в опытах *in vitro*.

Таблица 2

Изменение концентрации K^+ и Na^+ (ммоль/л) в эритроцитах кур и крыс при инкубации с инсулином и гидрокортизоном в опытах *in vitro*

Условия опыта	Куры		Крысы	
	K^+	Na^+	K^+	Na^+
Инкубация без гормона (1 ч)	$81,4 \pm 2,0$	$27,8 \pm 1,4$	$81,7 \pm 2,0$	$27,0 \pm 2,0$
Инкубация с инсулином (1 ч)	$96,4 \pm 1,5^*$	$25,0 \pm 1,1$	$79,7 \pm 4,5$	$28,6 \pm 3,8$
Инкубация без гормона (2—3 ч)	$83,5 \pm 0,9$	$30,1 \pm 0,7$	$80,0 \pm 2,1$	$22,3 \pm 1,3$
Инкубация с гидрокортизоном (2—3 ч)	$88,0 \pm 1,6^*$	$22,3 \pm 0,5^*$	$79,0 \pm 2,0$	$22,8 \pm 1,7$

Итак, нами получены существенные сдвиги внутриклеточных концентраций калия и натрия, которые могут быть следствием изменения активного и пассивного транспорта ионов через мембрану ядерных эритроцитов как в опытах *in vivo*, так и в опытах *in vitro*. Как известно, мембрана безъядерных эритроцитов является классическим объектом для изучения свойств K^+ , Na^+ АТФазы [3]. Вместе с тем в ядерных эритроцитах, в клеточных образованиях, в которых протекают процессы биосинтеза белка, при введении инсулина и гидрокортизона отмечается перераспределение ионов калия и натрия. Эти данные позволяют предположить, что существенным звеном в регуляции действия гормонов на транспорт ионов является биосинтез белка. Наши данные находятся в соответствии с результатами исследований, выполненных в нашей лаборатории и свидетельствуют о том, что активация биосинтеза белка в ядерных клетках вызывает развитие гиперполяризации клеток и ионные сдвиги в них. Ингибиторы биосинтеза белка предупреждают развитие гиперполяризации вызываемой гормонами, в мышечных, печеночных и нервных клетках [6]. Конкретный механизм этой связи не представляется еще достаточно ясным. Однако известны данные о связи между усиленным выведением натрия из ядерных клеток с синтезом определенной РНК и, как следствие этого, синтезом белка транспортной системы [9].

О. А. Мартыненко

EFFECT OF INSULIN AND HYDROCORTISONE ON K^+ AND Na^+ CONCENTRATION IN NUCLEAR AND ANUCLEAR CELLS OF CHICKEN AND RAT ERYTHROCYTES

Summary

The effect of insulin and hydrocortisone on ion transport across the membrane of nuclear and anuclear chicken and rat erythrocytes was studied in vivo and in vitro. In nuclear chicken erythrocytes, insulin and hydrocortisone induced marked shift of ions against the concentration gradient; insulin promotes an increase of intracellular K, while hydrocortisone decreases Na concentration. The above hormones produce no similar effect in anuclear rat erythrocytes.

Laboratory of Physiology, Institute of Gerontology,
Academy of Medical Sciences, Ukrainian SSR, Kiev

Список литературы

1. Ганелина Л. Ш. Кортикостероидные гормоны и гистоны (к механизму действия).— Цитология, 1975, 27, № 1, с. 5—14.
2. Германюк Я. П. О достижении и перспективности исследований на молекулярном и субклеточном уровне в изучении механизма действия гормонов.— В кн.: Вопросы эндокринологии и обмена веществ. Киев, 1970, вып. 2, с. 15—35.
3. Лишко В. К. Натриевый насос биологических мембран. Киев, 1977. 144 с.
4. Резников И. И. Исследование взаимодействия стероидных гормонов с мембранами гепатоцитов и эритроцитов.— Бюл. эксперим. биологии и медицины, 1978, № 1, с. 31—33.
5. Сапоцинська О. Б., Шуба Є. П. Визначення натрію, калію та кальцію методом по-лум'яної фотометрії в тканинах.— Укр. біохім. журн., 1965, № 1, с. 151—154.
6. Frolkis V. V., Martynenko O. A., Zamostyan V. P. Aging of the neuromuscular apparatus.— Gerontology, 1976, 22, N 4, p. 244—279.
7. Хускивадзе Б. К., Тонгур В. С. Синтез белка и РНК в ядерных и безъядерных клетках костного мозга и крови.— Вопр. биофизики, биохимии и патол. эритроцитов. М., 1967, с. 278—280.
8. Ginsberg H., Kahn C., Roth J. The insuline receptor of the turkey erythrocyte similarity to mammalian insulin receptors.— Endocrinology, 1977, 100, N 1, p. 82—90.
9. Boardman Z., Hult M., Lamb J., Newton J. P., Polson J. M. Evidence for the genetic control of the sodium pump density in the HeLa cells.— J. Physiol., 1974, 241, N 3, p. 771—794.
10. Cameron L. L., Prescott D. M. Protein RNA and protein metabolism in the maturation of the nucleated chicken erythrocyte.— Expl. Cell. Res., 1963, 30, p. 609—612.
11. Dupont C. N. The site of hemoglobin synthesis in the avian erythrocyte.— Biochem. Med., 1973, 8, N 2, p. 228—239.
12. Cavin J. R., Roth J., Jen P. Insulin receptors in human circulating cells and fibroblasts.— Proc. Nat. Acad. Sci. USA, 1972, 69, N 3, p. 747—751.

Лаборатория физиологии
Института геронтологии
АМН СССР, Киев

Поступила в редакцию
4.IV 1979 г.