

УДК 612.4.018

В. П. Комиссаренко, Н. Д. Тронько, А. Г. Минченко

СОВРЕМЕННЫЕ ПРЕДСТАВЛЕНИЯ О МЕХАНИЗМЕ
ДЕЙСТВИЯ ГЛЮКОКОРТИКОИДНЫХ ГОРМОНОВ

Глюкокортикоидные гормоны являются мощными и специфическими регуляторами обмена веществ во многих органах и тканях человека и животных. Их действие многогранное: эти гормоны очень тонко и с большой специфичностью регулируют активность определенных генов, индуцируя или подавляя биосинтез рибонуклеиновых кислот и белков, изменяют обмен углеводов и липидов. В настоящее время можно считать доказанным, что ведущим звеном в действии глюкокортикоидных гормонов на клетки является их влияние на функциональную активность генетического аппарата [7, 24]. Многочисленными исследованиями установлено, что первичным звеном в действии глюкокортикоидных гормонов на клетки является их взаимодействие со специфическими рецепторами клеток органов-мишеней, после чего проявляется их функциональная активность [24, 25]. В настоящее время имеются убедительные доказательства того, что глюкокортикоидные гормоны контролируют функциональную активность не только ядерных, но и цитоплазматических генов, локализованных в митохондриях [1, 15, 18, 53], причем действие гидрокортизона на биосинтез РНК в ядрах зависит в определенной степени от предварительного действия этого гормона на митохондрии [54].

Поскольку первичным звеном в действии глюкокортикоидных гормонов на клетки является их взаимодействие с цитоплазматическими рецепторами, рассмотрим сначала особенности этих макромолекулярных структур.

Рецепторы глюкокортикоидных гормонов. Рецепторы для глюкокортикоидных гормонов обнаружены во многих органах различных животных. Наибольшее количество работ посвящено изучению цитоплазматических рецепторов в клетках печени [25, 40, 41]. Говиндан [40, 41], изучая дексаметазон — связывающие белки в цитозоле печени крыс, получил высокоочищенный рецептор глюкокортикоидных гормонов. При электрофорезе в полиакриламидном геле этого рецептора обнаружено два белка с молекулярной массой 45 и 90 кД. Автор считает, что белок с молекулярной массой 90 кД является димером молекулы рецептора, молекулярная масса которой 45 кД. Однако, по данным других авторов [67], цитоплазматический рецептор из печени крыс имеет молекулярную массу 89 кД и не распадается на субъединицы даже в присутствии додецилсульфата натрия. По данным электрофореза в полиакриламидном геле с додецилсульфатом натрия этот рецептор был очищен до 85 % гомогенности. Не исключено, что диссоциация на субъединицы с молекулярной массой 45 кД не происходит из-за недостаточной очистки рецептора. В клетках печени, однако присутствует несколько форм рецептора глюкокортикоидных гормонов, которые различаются родством к различным глюкокортикоидным гормонам [25]. Рецепторы этих гормонов обнаружены также в почках, селезенке, сердце и тимусе [22, 24, 25, 29, 65]. По данным этих авторов, рецепторы в различных органах имеют сходные хроматографические характеристики и, по-видимому, подобны друг другу. Следует отметить, что в клетках печени крыс обнаружена одна форма рецептора, которая отсутствует в других органах [25]. Она характеризуется родством только к природным глюкокортикоидным гормонам. Молекулярная масса рецепторов, выделяемых из цитозола клеток тимуса, равна 45,7 и 90 кД [65], что согласуется с данными Говиндана [40], полученными для рецептора клеток печени. Показано, что в тимусе имеется субпопуляция Т-клеток, устойчивая к глюкокортикоидным гормонам, что обусловлено дефектом цитоплазматического рецептора этих гормонов.

Связывание глюкокортикоидных гормонов с рецепторами и транслокация комплексов в ядро. Образование комплекса между глюкокортикоидным гормоном и его рецептором может происходить как *in vivo*, так и *in vitro*. Следует отметить, что образование гормон-рецепторного комплекса *in vitro* может происходить при низкой тем-

пературе, но такой комплекс не проникает в ядро. Не проникает в ядра и свободный (не связанный с рецептором) глюкокортикоидный гормон. Для транслокации гормон-рецепторного комплекса в ядро, необходима его активация, которая происходит при повышении температуры до 25 °С. Имеются данные о том, что в ядра может проникать и активированный рецептор в отсутствие глюкокортикоидного гормона, но механизмы активации одного рецептора в настоящее время не известны [57]. Температурная активация гормон-рецепторного комплекса заключается в конформационном изменении его структурной организации. Скорость активации при 25 °С равна $1,36 \times 10^3$ за секунду. Значения энтальпии и энтропии реакции активации комплекса очень высокие и похожи на описанные для реакций денатурации белков, что указывает на разрыв некоторых нековалентных связей при активации комплекса. Реакция активации комплекса происходит до тех пор, пока не активируется 60 % комплексов, что соответствует равновесию между активированными и неактивированными формами комплексов рецептора с гормоном. Это равновесие не изменяется при изменении температуры от 10 до 30 °С. В присутствии избытка акцептора (ядра) удается активировать до 80 % комплексов. При инкубации срезов печени с глюкокортикоидным гормоном в ядрах клеток обнаруживается около 90 % гормон-рецепторных комплексов. Недавно было показано [55], что образованный при низкой температуре гормон-рецепторный комплекс может быть активирован не только повышением температуры, но и добавлением АТФ (5–10 ммоль/л), причем это действие АТФ было специфическим. АТФ, по-видимому, способствует транслокации гормон-рецепторного комплекса в ядро *in vivo*, взаимодействуя с нуклеотидсвязывающими участками рецептора. Противоположное АТФ действие на транслокацию комплекса в ядро может оказывать пиридоксальфосфат [52]. По-видимому, пиридоксальфосфат является регулятором количества активных гормон-рецепторных комплексов, способных транслоцироваться в ядро [52]. Недавно обнаружен и макромолекулярный ингибитор, который, взаимодействуя с гормон-рецепторным комплексом в ядрах, препятствует его связыванию с акцепторными сайтами ядер. Он был выделен из культивируемых клеток гепатомы крыс. Какова же природа сайтов связывания глюкокортикоидных гормонов в ядрах клеток органов-мишеней у животных и человека?

Связывание глюкокортикоидных гормонов с ДНК и белками хроматина. Изучение природы ядерных акцепторов для глюкокортикоидных гормонов показало, что в их составе имеется как ДНК, так и другие компоненты хроматина [46], причем число акцепторных сайтов значительно превышает количество глюкокортикоидных гормонов в ядрах клеток. Связывание гормон-рецепторных комплексов с ДНК показано в ряде работ [21, 50]. Связывание комплексов с ДНК является насыщаемым и происходит скорее всего без узнавания каких-либо определенных нуклеотидных последовательностей [21]. Однако сродство комплекса к ядрам значительно выше, чем к ДНК. Хамана и Иван [43], изучая взаимодействие комплекса ^3H -кортизол-рецептор, полученного из печени крыс, с ДНК и препаратами хроматина из различных органов крыс, показали, что связывание гормон-рецепторного комплекса с ДНК, выделенной из печени, тимуса, простаты и матки, было идентичным, но связывание этого комплекса с хроматином, полученным из ядер этих органов, было различным, причем максимальное связывание было с хроматином печени. В большинстве органов гормон-рецепторный комплекс связывается с ядерными акцепторными сайтами непосредственно в отличие от клеток лимфоидной ткани, где, по-видимому, требуется предварительное образование комплекса между гормон-рецепторным комплексом и посредником белковой природы [46]. Особый интерес представляет вопрос об идентичности цитоплазматического и ядерного рецепторов: это один и тот же белок или разные белки? Если это один и тот же белок, то, как он изменяется в ядрах? Говиндан [41] показал, что цитоплазматический рецептор глюкокортикоидных гормонов состоит из двух форм с молекулярной массой 45 и 90 кД, а из ядер печени экстрагируется только одна форма с молекулярной массой 90 кД. Методом пептидных карт показана идентичность ядерного и цитоплазматического рецепторов. В цитозоле тимоцитов также содержится две формы рецепторов с молекулярной массой 45,7 и 90 кД, а из ядер экстрагируется одна форма с молекулярной массой 72 кД, а не 90 кД, как в случае ядер печени [65]. Антитела, полученные против двух цитоплазматических форм рецепторов, давали кросс-реакции с этими двумя рецепторами, но не взаимодействовали с ядерным рецептором. Предположили [65], что активированный цитоплазматический дексаметазон-рецепторный комплекс пос-

ле транслокации в ядро деградирует с образованием рецептора с молекулярной массой 72 кД и белка с молекулярной массой 36 или 38 кД. Последние были обнаружены в нуклеоплазме и взаимодействовали с антителами, против цитоплазматических рецепторов. Не исключено, что различия в направленности действия глюкокортикоидных гормонов на ядерный геном в печени и тимусе обусловлены расщеплением гормон-рецепторных комплексов в ядрах клеток тимуса и отсутствием таких превращений в ядрах клеток печени.

Каким же образом взаимодействие гормон-рецепторного комплекса с ядерными акцепторными сайтами «передается» дальше и достигает гена, изменяя его экспрессию? Джонсон и др. [46] считают, что на первых этапах воздействия глюкокортикоидного гормона на клетку оно направлено на изменение числа промоторов, что в свою очередь обусловлено изменением структуры хроматина за счет ферментативной ковалентной модификации хромосомных белков, т. е. под влиянием глюкокортикоидного гормона в транскрипцию включаются новые последовательности ДНК, ранее не транскрибируемые [4]. Возможно, что ферментативная модификация хромосомных белков происходит под влиянием промежуточного фактора, который образуется в результате взаимодействия гормон-рецепторного комплекса с ядерными акцепторными сайтами, или сам рецептор является ферментом, катализирующим реакцию модификации хроматина.

Таким образом, глюкокортикоиды, изменяя число промоторов, меняют транскрипцию определенных генов в ядрах клеток органов-мишеней. Синтез каких РНК индуцируется глюкокортикоидными гормонами?

Действие глюкокортикоидных гормонов на синтез РНК в ядрах. Исследования последних лет, касающиеся механизмов регуляции синтеза специфических матричных РНК глюкокортикоидными гормонами, показали, что воздействие этих гормонов на биосинтез матричных РНК является основным этапом в реализации биологических эффектов глюкокортикоидных гормонов в клетках органов-мишеней. Специфические эффекты глюкокортикоидных гормонов могут быть как стимулирующими (действие на синтез ферментов в печени, на образование гормона роста в опухолевых клетках аденогипофиза крыс), так и ингибирующими (действие на синтез РНК и белков в лимфоидной ткани, снижение синтеза АКТГ в опухолевых клетках гипофиза мышей).

Рассмотрим сначала стимулирующее действие глюкокортикоидных гормонов на биосинтез РНК в ядрах клеток печени. Показано, что в течение часа после введения крысам глюкокортикоидного гормона в ядрах клеток печени стимулируется синтез ДНК-подобной РНК, по-видимому, мРНК, а затем наблюдается стимуляция синтеза рРНК, которая совпадает по времени с увеличением активности специфических ферментов [20, 68]. После введения животным глюкокортикоидов значительно увеличивается РНК-полимеразная активность ядер печени [9, 68]. Отчасти это может быть обусловлено увеличением матричной активности эухроматина, что связано, по-видимому, с включением в транскрипцию нетранскрибируемых ранее последовательностей ДНК, увеличением количества негистоновых белков и мест связывания для экзогенной РНК-полимеразы [4, 27]. Вместе с тем увеличение РНК-полимеразной активности ядер печени при введении животным глюкокортикоидов связано также с увеличением синтеза РНК-полимеразы [68]. Методами молекулярной гибридизации синтезируемых в ядрах РНК с ДНК показано, что глюкокортикоидные гормоны оказывают специфическое действие на транскрипцию ядерного генома в печени крыс [49]. По данным конкурентной гибридизации гетерогенная ядерная РНК адреналэктомированных крыс существенно отличается от тех препаратов РНК, которые получены из печени обработанных гидрокортизоном крыс [8, 49]. Гидрокортизон индуцирует синтез РНК как со средних повторов, так и с уникальных последовательностей генома [49], хотя Константинова и др. [8] показали предпочтительное стимулирование кортизоном синтеза ядерных РНК на повторяющихся последовательностях ДНК. Изучая влияние гидрокортизона на транскрипционную активность ДНК, Дударева [4] показала, что этот гормон увеличивает транскрипционную активность как уникальных, так и повторяющихся последовательностей ДНК. Гибридизационный анализ цитоплазматических РНК показал, что большая часть индуцируемых глюкокортикоидными гормонами молекул РНК не транспортируется в цитоплазму, а остается в ядре [8, 49]. Какова функциональная роль этих индуцируемых глюкокортикоидами ядерных РНК, не транспортируемых в цитоплазму? Ответить на этот вопрос в настоящее время не представляется возможным. Несмотря на то что часть индуцируемой глюкокортикоидными гормонами РНК оста-

ется в ядре, в цитоплазме заметно увеличивается количество рибосомных, транспортных и поли(А)-содержащих РНК, причем при этом изменяется и качественный состав транспортных и поли(А)-содержащих РНК. В печени крыс под влиянием гидрокортизона появляется новая изоакцепторная лейцил-тРНК и появляется даже новая лейцил-тРНК-синтетазная активность. Эта тРНК и фермент, ее ацилирующий, появляются через 3 ч после введения гормона, а через 12 ч — исчезают. Анализ поли(А)-содержащих РНК, которые появляются в цитоплазме клеток печени после введения животным гидрокортизона, показал, что эти РНК содержат более длинные сегменты поли(А) и двуцепочечные структуры [9].

Увеличение транскрипционной активности обнаружено в ядрах молочной железы под влиянием дексаметазон-рецепторного комплекса у животных, предварительно обработанных метирапоном [62]. Причем под влиянием гормон-рецепторного комплекса изменяется не только общий уровень синтеза РНК, но и специфичность транскрипции ядерного генома в клетках молочной железы. Показано также стимулирующее действие гидрокортизона на экспрессию β -казеина в эпителиальных клетках молочной железы у крольчих, предварительно обработанных пролактином [37, 63]. Глюкокортикоидные гормоны усиливают также экспрессию генов овальбумина и кональбумина в яйцеводе цыплят, предварительно получавших эстрогены [42]. При этом дексаметазон связывался с цитоплазматическими рецепторами, которые по ряду тестов были идентичны рецепторам эстрогенов.

Эксперименты с различными линиями культивируемых клеток гипофиза позволили доказать, что специфические эффекты глюкокортикоидных гормонов могут быть как стимулирующими, так и ингибирующими даже в пределах одного органа [34, 46]. Так, глюкокортикоидные гормоны увеличивают синтез соматотропина в экспоненциально растущей суспензионной культуре клеток гипофиза крыс [34]. После трехдневной инкубации клеток гипофиза крыс с дексаметазоном (80 нмоль/л) синтез соматотропина увеличивается в 14 раз, а уровень пре-мРНК для соматотропина — приблизительно в 22 раза [34]. В то же время действие глюкокортикоидов на биосинтез кортикотропина в гипофизе является ингибирующим, что было показано при инкубации с глюкокортикоидами опухолевых клеток гипофиза мышей [46]. Джонсон и др. [46] считают, что объем и направленность ответа клеточного генома на воздействие глюкокортикоидных гормонов в клетках гипофиза модулируется другими гормонами, в частности, инсулином, тиреоидными гормонами, факторами роста. Причем эти воздействия реализуются без изменения уровня рецепторов глюкокортикоидных гормонов или степени их транслокации в ядра клеток. Обнаружено [26], что даже в пределах одного типа клеток направленность изменений ферментативной активности может быть противоположной в зависимости от стадий клеточной дифференцировки, причем, по мнению авторов, это относится к ферментным белкам, синтез которых кодируется одними и теми же генами.

Угнетающее действие глюкокортикоидных гормонов на биосинтез РНК продемонстрировано и в других органах. При введении животным кортикостерона значительно уменьшается количество активного хроматина в ядрах клеток головного мозга. Уменьшение включения меченой оротовой кислоты и содержания РНК отмечается и в икроножной мышце крыс после введения преднизолона [39]. При этом скорость деградации РНК значительно уменьшается. Под влиянием преднизолона заметно понижается РНК-полимеразная активность ядер икроножной мышцы крыс, причем выявлены изменения в активности только Mg^{+2} -зависимой РНК-полимеразы [56]. Особого внимания заслуживают данные об ингибирующем действии глюкокортикоидных гормонов на биосинтез ядерных РНК в лимфоидной ткани. Обнаружено, что комплекс гидрокортизона с цитоплазматическим рецептором понижает РНК-полимеразную активность изолированных ядер клеток тимуса. Свободный гормон таким действием не обладал. Но было обнаружено, что при инкубации хроматина клеток тимуса в условиях низкой ионной силы синтез РНК может ингибироваться комплексом гидрокортизона с транскортином. Более детальный анализ действия глюкокортикоидных гормонов на биосинтез ядерных РНК в клетках тимуса показал, что инкубация изолированных тимоцитов крыс с дексаметазоном приводит к заметному увеличению активности эндогенной РНК-полимеразы В в изолированных ядрах уже через 10 мин после добавления к клеткам дексаметазона, а затем активность этого фермента понижается до исходного уровня. Через 1 ч после добавления гормона начинается понижение активности РНК-полимеразы А и РНК-полимеразы В в ядрах тимоцитов. По-видимому, действие глюкокортикоидных гормо-

нов на активность РНК-полимераз А и В в ядрах тимочитов представляет собой два относительно независимые пути действия этих гормонов на клетки тимуса, так как ингибирование биосинтеза белка циклогексимидом блокирует эффект дексаметазона на РНК-полимеразу А, но не на РНК-полимеразу В. Если добавлять циклогексимид к тимочитам через 15 мин после добавления дексаметазона, то ингибирующее действие гормона на РНК-полимеразу А сохраняется. Не исключена возможность того, что стимулирующее действие дексаметазона на РНК-полимеразу В сменяется ингибирующим в связи с тем, что проникающий в ядро гормон-рецепторный комплекс расщепляется с образованием меньшего по молекулярной массе рецептора [65]. Возможно, что нативный гормон-рецепторный комплекс (90 кД) стимулирует активность РНК-полимеразы В, а комплекс глюкокортикоидного гормона с видоизмененным рецептором (72 кД) — угнетает активность этого фермента. Однако, это предположение требует экспериментального подтверждения.

Действие глюкокортикоидных гормонов на синтез и трансляцию мРНК индуцируемых белков. Из индуцируемых глюкокортикоидными гормонами специфических ферментов наиболее изученными являются тирозинаминотрансфераза и триптофаноксигеназа. В настоящее время достоверно доказано, что глюкокортикоидные гормоны усиливают транскрипцию генов, кодирующих синтез этих ферментных белков [11, 33, 45, 59, 60, 64]. Уже через 20 мин после введения животным гидрокортизона в печени отмечается достоверное увеличение уровня мРНК для тирозинаминотрансферазы. Максимальное увеличение (приблизительно десятикратное) уровня мРНК для этого фермента наблюдается через 5 ч после введения животным гормона, затем постепенно снижается и достигает исходного уровня через 14 ч [10, 33, 59]. Нарастание ферментативной активности задерживается по сравнению с увеличением уровня мРНК для тирозинаминотрансферазы на 5—10 мин, а максимум ферментативной активности наблюдается через 2 ч после пика активности мРНК для этого фермента [59]. Мертвецов [10] показал, что глюкокортикоидные гормоны изменяют изоферментный состав тирозинаминотрансферазы, индуцируя синтез только одного изофермента, тогда как активность другого изофермента практически не изменяется. В настоящее время выделена мРНК для индуцируемого глюкокортикоидами изофермента тирозинаминотрансферазы, на ее матрице синтезирована кДНК, которую клонировали в бактериальных плаزمидях с целью выделения и расшифровки структурной организации природного гена, кодирующего синтез этого изофермента [12]. Обнаружено, что если блокировать синтез РНК актиномицином Д или синтез белка циклогексимидом, то наблюдается супериндукция тирозинаминотрансферазы [33, 45]. Так, если животным ввести через 4 ч после гидрокортизона циклогексимид, то через 2 ч после этого наблюдается увеличение уровня мРНК для тирозинаминотрансферазы в 5 раз по сравнению с введением одного гормона и в 2 раза увеличивается уровень мРНК для триптофаноксигеназы. Это обусловлено, по-видимому, значительным уменьшением скорости деградации мРНК для этих ферментов [33]. Опыты с использованием клона НТС-клеток, отвечающих на воздействие глюкокортикоидного гормона увеличением синтеза тирозинаминотрансферазы, показали, что эта стимуляция происходит в результате прямого взаимодействия гормон-рецепторных комплексов с акцепторами хроматина без участия какого-либо белкового посредника [46]. На основании изучения действия глюкокортикоидных гормонов на индукцию тирозинаминотрансферазы в различных сублиниях культивируемых НТС-клеток было сделано заключение, что общий уровень транскрибируемых глюкокортикоид-рецепторных комплексов не является прямым показателем чувствительности клеток к глюкокортикоидным гормонам [64]. Эти авторы считают, что либо существует несколько типов рецепторов для глюкокортикоидов, ответственных за реализацию разных эффектов этих гормонов, либо различия в действии одного и того же глюкокортикоидного гормона проявляются на уровне акцепторных сайтов. Глюкокортикоидные гормоны усиливают также экспрессию гена фенилаланиндегидроксилазы. Чиапелли и др. [31] показали, что увеличению активности фенилаланиндегидроксилазы предшествует увеличение в полисомах клеток гепатомы крыс мРНК, специфической для этого фермента, если клетки инкубировали с гидрокортизоном (1 мкмоль/л).

Глюкокортикоидные гормоны индуцируют синтез также глутаминсинтетазы в ретине эмбрионов цыплят с 7-го по 12-й день, причем количество рецепторов и специфических акцепторных сайтов в ядрах при этом не увеличивалось, а даже уменьшалось. Высказано предположение, что гормональная индукция глутаминсинтетазы в ретине

цыпляют обусловлена либо онтогенетическими изменениями в специфичности рецептор-акцепторного взаимодействия, либо возрастными изменениями транскрипции и трансляции мРНК для глутаминсинтетазы в эмбриональных клетках сетчатки.

Имеются данные об индуцирующем действии глюкокортикоидных гормонов на синтез фосфолипаз, причем Экстон [36] считает, что индуцирующее действие глюкокортикоидных гормонов на синтез этого фермента — один из главных механизмов активации глюкокортикоидными гормонами глюконеогенеза.

Таким образом, глюкокортикоидные гормоны индуцируют синтез ряда специфических ферментов. Однако действие этих гормонов не ограничивается индукцией экспрессии только специфических генов, а распространяется на большую группу гормонозависимых генов, таких как гены рибосомных и транспортных РНК, гены РНК-полимераз и аминоацил-тРНК-синтетаз, гены рибосомальных белков, ядерные гены митохондриальных белков, гены митохондрий и ряд других генов. Так, в геноме печени петухов имеется около 100—200 генов, экспрессия которых изменяется после введения эстрогенов. По-видимому, аналогичная ситуация имеет место и при воздействии глюкокортикоидов на клетки печени. Поэтому, для понимания механизма действия гормонов необходимо учитывать все стороны его действия, его влияние не только на гены специфических ферментных белков, но и на активность других гормонозависимых генов, в том числе и митохондриальных генов.

Действие глюкокортикоидных гормонов на экспрессию митохондриальных генов. К настоящему времени накоплен определенный экспериментальный материал, показывающий, что активность митохондриальных генов находится под контролем глюкокортикоидных гормонов. Интерес к изучению гормональной регуляции функционирования митохондриального генома обусловлен, с одной стороны, тем, что этот геном обладает относительной автономией и коренным образом отличается от ядерного генома как структурной организацией генетического материала, так и механизмами экспрессии и регуляции экспрессии генов [28, 30]. С другой стороны, интерес к изучению регуляции гормонами активности митохондриального генома обусловлен значительными успехами, достигнутыми в последние годы в изучении структурной организации этого генома и клонировании митохондриальных генов в бактериальных плаزمиды, что открыло большие возможности для детального анализа действия различных гормонов и, в частности, глюкокортикоидных гормонов на экспрессию генов в митохондриях [23, 28].

Ранее было показано, что глюкокортикоидные гормоны оказывают стимулирующее влияние на биосинтез митохондриальных РНК в печени крыс [6, 53]. Так, введение крысам кортизона приводит к существенному увеличению включения ^3H -уридина и ^{14}C -гуанина в РНК митохондрий печени. Мансоур и Насс [53] провели сравнительное изучение действия гидрокортизона на биосинтез рибонуклеиновых кислот в ядрах и митохондриях и обнаружили, что включение ^3H -уридинтрифосфата в РНК изолированными митохондриями стимулируется гормоном раньше, чем в ядрах. Следует также отметить, что биосинтез РНК в митохондриях клеток печени увеличивался уже при введении гидрокортизона в дозе 5 мг/кг, в то время как в ядрах заметное увеличение синтеза РНК наблюдалось только после введения животным гидрокортизона в дозе 50 мг/кг [53].

При сравнении действия глюкокортикоидных гормонов на биосинтез митохондриальных РНК в различных органах крыс была показана органная специфичность действия этих гормонов на митохондрии [1, 3]. Так, при введении адrenaлэктомированным животным гидрокортизона биосинтез митохондриальных РНК увеличивался только в печени, существенно не изменялся в миокарде и снижался в селезенке. Противоположно направленные изменения наблюдались в митохондриях этих органов при понижении уровня глюкокортикоидных гормонов в организме вследствие адrenaлэктомии: в митохондриях печени и миокарда биосинтез РНК снижался, а в митохондриях селезенки — увеличивался [1, 3].

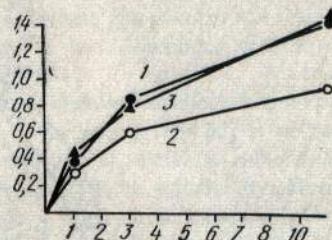
Увеличение интенсивности биосинтеза митохондриальных РНК в печени крыс обнаружено также при эндогенном повышении уровня глюкокортикоидных гормонов в организме крыс с помощью кортикотропина (АКТГ) [2, 14]. Введение кортикотропина адrenaлэктомированным животным не изменяло биосинтез РНК в митохондриях клеток печени [14].

Величина стимулирующего эффекта глюкокортикоидного гормона на биосинтез РНК в митохондриях, как и в ядрах, в значительной мере определяется уровнем ин-

сулина в организме [15]. Было установлено, что при недостатке инсулина в организме значительно увеличивается чувствительность митохондриального аппарата транскрипции к действию глюкокортикоидных гормонов. При введении гидрокортизона intactным крысам биосинтез РНК в митохондриях печени увеличивается на 47 %, а при введении гормона в тех же количествах аллоксандиабетическим животным отмечается значительно большее увеличение биосинтеза митохондриальных РНК (на 171 %) [15].

Рис. 1. Гибридизация меченых *in vivo* митохондриальных РНК печени крыс с митохондриальной ДНК [18].

По горизонтали — количество РНК в гибридационной смеси (в мкг); по вертикали — количество РНК в гибриде (в мкг). Количество ДНК на фильтре — 3 мкг. 1 — РНК контрольных, 2 — РНК адrenaлэктомированных, 3 — РНК адrenaлэктомированных крыс, которым ежедневно на протяжении 7 дней вводили 5 мг/кг гидрокортизона.



РНК-полимеразная активность митохондрий печени также значительно увеличивается при введении гидрокортизона диабетическим животным [15], в то время как у intactных крыс увеличение РНК-полимеразной активности в митохондриях клеток печени выражено в значительно меньшей степени [16]. У диабетических животных также показана органная специфичность действия глюкокортикоидных гормонов на биосинтез митохондриальных РНК: увеличение синтеза РНК в митохондриях печени и миокарда и понижение — в митохондриях селезенки [15].

Более детальный анализ действия глюкокортикоидных гормонов на экспрессию митохондриального генома был проведен только в последние годы. Этому способствовали успехи, достигнутые в изучении структурной организации митохондриального генома, картировании митохондриальных генов и клонировании фрагментов митохондриальной ДНК печени крыс в бактериальных плазмидах [23, 28]. Установлено, что РНК из митохондрий печени адrenaлэктомированных крыс (меченная *in vivo* ^3H -орататом или *in vitro* ^3H -диметилсульфатом) дает меньшее плато при насыщающей гибридной гибридизации с митохондриальной ДНК по сравнению с митохондриальными РНК из печени нормальных крыс [17]. Методом конкурентной молекулярной гибридизации показано, что РНК из митохондрий печени адrenaлэктомированных крыс является примерно на 10 % худшим конкурентом, чем митохондриальная РНК из печени нормальных крыс [17]. На основании этих данных было высказано предположение, что в условиях дефицита глюкокортикоидных гормонов в митохондриях печени отсутствуют транскрипты с 1/10 части генома, присутствующие в препаратах РНК из митохондрий печени нормальных животных. При введении адrenaлэктомированному животному гидрокортизона эффективность гибридной гибридизации митохондриальных РНК из печени этих крыс увеличивается [18]. Результаты этих экспериментов приведены на рис. 1. Гибридизацией митохондриальных РНК из печени нормальных и адrenaлэктомированных крыс с комплементарными тяжами митохондриальной ДНК показано, что отсутствующие у адrenaлэктомированных животных транскрипты кодируются Н-тяжем митохондриальной ДНК. Для того чтобы показать, экспрессия какой части митохондриального генома находится под контролем глюкокортикоидных гормонов, были проведены эксперименты по конкурентной гибридизации немеченных митохондриальных РНК печени нормальных и адrenaлэктомированных крыс и меченой третием Н-специфической РНК за гибридную гибридизацию на ДНК рекомбинантных плазмид, содержащих вставки рестрикционных фрагментов митохондриальной ДНК печени крыс [23]. Из результатов этих экспериментов следует, что различия в конкурентной способности между митохондриальными РНК печени нормальных и адrenaлэктомированных крыс относятся к участку митохондриального генома с координатами 10—31 единица карты ДНК митохондрий [18]. На рис. 2 приведена схема, показывающая, что выявленные различия в экспрессии митохондриальных генов относятся к участку генома митохондрий, который кодирует синтез одной поли (А)-содержащей РНК (РНК 5) для двух предполагаемых полипептидов и трех тРНК. На этой схеме показано расположение транскриптов на митохондриальной ДНК клеток человека, но учитывая имеющиеся в литературе данные о размерах и положении транскриптов Н-тяжа на митохондриальной ДНК различных животных и

человека, можно предполагать, что и в митохондриальной ДНК крысы участок с координатами 10—31 единица генетической карты кодирует синтез тех же продуктов, что и в клетках человека, т. е. синтез поли(А)-содержащей РНК 5. Каким образом глюкокортикоидные гормоны контролируют экспрессию этого гена? В настоящее время, учитывая данные о понижении скорости распада митохондриальных РНК в печени адреналэктомированных крыс, можно предложить следующее объяснение этого явления.

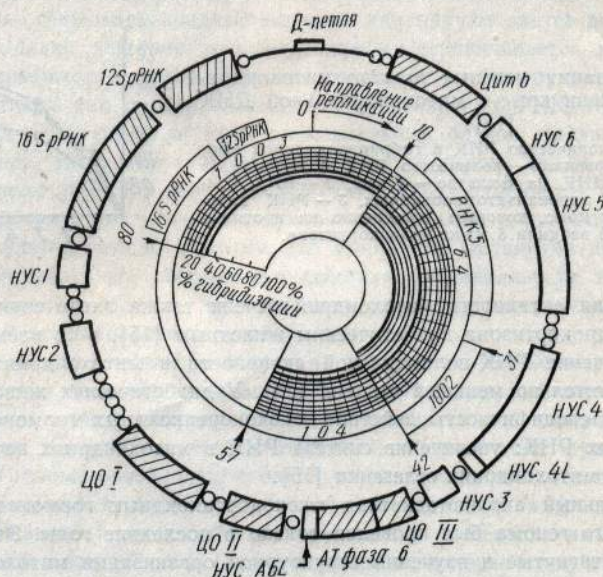


Рис. 2. Конкуренция между митохондриальными РНК печени нормальных (продольная штриховка) и адреналэктомированных (штриховка в клетку) крыс и меченной тритием Н-специфической кРНК за гибридизацию с фрагментами митохондриальной ДНК, проклонированными в составе бактериальных плазмид [18].

На внешнем кольце рисунка — схематическое расположение генов на митохондриальной ДНК клеток человека [30]. Кругочки — гены тРНК; заштрихованные участки — идентифицированные гены; незаштрихованные участки — неидентифицированные участки списывания (НУС). ЦО I, ЦО II и ЦО III — соответственно субъединицы I, II и III цитохромоксидазы; АТФаза б — субъединица АТФазного комплекса; Цит. б — цитохром б.

Оно заключается в том, что эффективная транскрипция гена, кодирующего поли(А)-содержащую РНК 5, требует нормального уровня глюкокортикоидных гормонов в клетках печени. Поэтому при понижении уровня глюкокортикоидных гормонов в организ-

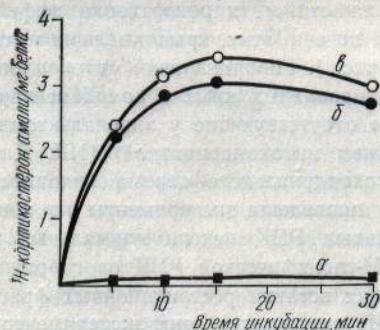


Рис. 3. Проникновение глюкокортикоидных гормонов в митохондрии.

Митохондрии инкубировали с ^3H -кортикостероном, комплексом ^3H -кортикостерона с цитоплазматическим рецептором, полученным согласно [32], отмывали и определяли количество гормона в митохондриях и во фракции внутренние мембраны — матрикс. а — митохондрии инкубировали с ^3H -кортикостероном и гормон определяли в митохондриях; б — митохондрии инкубировали с гормоном-рецепторным комплексом и гормон определяли в митохондриях; в — митохондрии инкубировали с гормоном-рецепторным комплексом и гормон определяли во фракции внутренние мембраны — матрикс.

ме в результате адреналэктомии происходит замедление транскрипции данного участка митохондриального генома, а введение гидрокортизона этим животным — увеличивает транскрипцию. Показано, что увеличение транскрипции митохондриального генома при введении адреналэктомированным животным гидрокортизона приводит к увеличению биосинтеза белков на митохондриальных рибосомах [13].

Каким образом глюкокортикоидные гормоны усиливают биосинтез РНК и белков в митохондриях печени: оказывая опосредованное или непосредственное действие на эти органеллы?

Полученные нами данные показывают, что глюкокортикоидные гормоны могут проникать в митохондрии, но только в комплексе с цитоплазматическим рецептором (рис. 3). Свободный кортикостерон в митохондрии не проникает. Из приведенных на рис. 3. результатов видно, что связавшийся с митохондриями ^3H -кортикостерон ассоциирован не с внешней мембраной митохондрий, а с фракцией внутренней мембраны-матрикс. В настоящее время еще нельзя сказать, с какими внутримитохондриальными структурами он взаимодействует, но решение этого вопроса имеет исключительное значение для расшифровки молекулярных механизмов действия глюкокортикоидных гормонов, особенно в свете последних данных о наличии в митохондриях хромосомоподобных структур [58, 66].

Говоря о значении индукции синтеза РНК в митохондриях печени глюкокортикоидными гормонами, следует отметить данные Мансоура и Насса [53, 54] о необходимости предварительного увеличения интенсивности биосинтеза РНК в митохондриях гидрокортизоном для индукции этим гормоном синтеза РНК в ядрах. В настоящее время уже имеются данные, указывающие на важность продуктов митохондриальной трансляции в экспрессии ядерных генов [19]. По-видимому, ядерно-митохондриальные взаимоотношения очень сложные и чрезвычайно важные для функционирования клетки. Изучение роли гормонов в регуляции взаимодействия ядерного и митохондриального генома представляет несомненный интерес для понимания молекулярных механизмов действия гормонов.

Значение метаболизма глюкокортикоидных гормонов для механизма их действия. Метаболизм глюкокортикоидных гормонов тесно сопряжен с механизмом их гормонального действия. Если метаболизм гормонов в эффекторных органах достаточно выражен, то он в принципе может оказывать влияние на внутриклеточную концентрацию гормона, а следовательно, и на реализацию гормонального эффекта [6, 24]. Наряду с этим обмен стероидов, как и других гормонов, долгое время рассматривался как процесс инактивации этих соединений. Однако в последние 10—15 лет была выдвинута новая концепция о функциональном значении обмена стероидных гормонов. Суть ее сводится к тому, что определенную физиологическую роль играют не только гормоны, но и их метаболиты. Некоторые из метаболитов обладают новыми регуляторными и биокаталитическими свойствами (правда в сравнении с андрогенами и эстрогенами это положение в меньшей степени относится к глюкокортикоидам). Так, метаболит гидрокортизона, кортизон является весьма эффективным в индукции биосинтеза РНК как в ядрах, так и в митохондриях [8, 9, 68]. Имеются некоторые различия в действии кортизона и гидрокортизона на процессы транскрипции в ядрах: кортизон увеличивает транскрипционную активность, главным образом, повторяющихся последовательностей ДНК [8], а гидрокортизон — как повторяющихся, так и уникальных последовательностей ДНК [4, 49]. Не исключено, что эти отличия в действии на транскрипцию могут быть следствием особенностей химической структуры кортизона и гидрокортизона, хотя не исключается возможность и того, что эти различия могут быть обусловлены особенностями методических подходов различных авторов. Кортизон, по-видимому, достаточно эффективно связывается с рецепторами глюкокортикоидных гормонов, так как связывание с ядрами глюкокортикоидного гормона указывает на образование активного комплекса между гормоном и его рецептором. Несмотря на то, что кортизон оказывает аналогичное гидрокортизону действие на биосинтез РНК, в отношении влияния на синтез транскортина они оказывают противоположное по направленности действие. Кортизон уменьшая образование транскортина в печени, способствует более интенсивному поступлению активного гормона в эффекторные органы, хотя связывание глюкокортикоидного гормона с транскортином нельзя рассматривать как процесс его временной инактивации, так как комплекс гормона с транскортином может влиять на экспрессию генов. В то же время, производное кортикостерона 5α -дигидрокортикостерон не связывается с рецептором глюкокортикоидов и не обладает глюкокортикоидной активностью, так как не индуцирует синтез тирозинаминотрансферазы и триптофаноксигеназы. На основании вышесказанного можно предположить, что метаболизм глюкокортикоидного гормона в эффекторном органе может включаться непосредственно в механизм его биологического действия. Метаболические превращения могут играть активную роль и в местной регуляции и саморегуляции гормонального эффекта. Местная регуляция может выражаться в инактивации гормона, либо в его активации.

Итак, глюкокортикоидные гормоны оказывают выраженное действие на обмен веществ в различных органах и тканях, причем в большинстве случаев это действие гормонов опосредовано через изменение экспрессии генов. На основании изложенного выше материала можно предложить следующую схему действия глюкокортикоидных гормонов: связывание гормона с цитоплазматическим рецептором, активация комплекса и его транслокация в ядро или митохондрии, связывание с акцепторными сайтами и изменение числа промоторов, вследствие чего происходит активация транскрипции определенных генов, увеличение уровня РНК в цитоплазме и интенсификация синтеза специфических ферментных белков. Однако действие глюкокортикоидных гормонов на клетки органов-мишеней не ограничивается изменением экспрессии специфических генов. Под действием этих гормонов изменяется экспрессия очень большого количества генов, которые, по-видимому, обеспечивают материальную основу для продолжительного синтеза индуцируемых глюкокортикоидами специфических белков. Это, главным образом, гены, кодирующие синтез РНК и белков для аппаратов транскрипции и трансляции.

Однако не все эффекты глюкокортикоидных гормонов можно объяснить их влиянием на геном. Возможно, что первичным звеном в действии глюкокортикоидных гормонов является их взаимодействие с рецепторами, расположенными в плазматических мембранах клеток [38, 44]. Следует отметить, что эти рецепторы отличаются от цитоплазматических рецепторов и с ними могут связываться только природные глюкокортикоиды [44]. Не исключено, что определенную роль в действии глюкокортикоидных гормонов на экспрессию генов может играть взаимодействие активированных гормон-рецепторных комплексов с ядерной оболочкой [61]. Важную роль в реализации эффекта глюкокортикоидных гормонов на метаболизм в клетках органов-мишеней играет метилирование ДНК, фосфорилирование ядерных белков, метилирование РНК, увеличение трансляционной активности рибосом [5, 47, 51].

В плане дальнейшего изучения молекулярных механизмов действия глюкокортикоидных гормонов перспективными могут быть исследования, направленные на изучение следующих вопросов: 1) химическая природа и структура сайтов связывания глюкокортикоидных гормонов в ядрах и митохондриях; 2) структурная организация генов, кодирующих синтез индуцируемых глюкокортикоидами специфических белков; 3) механизмы передачи информации от сайтов связывания глюкокортикоид-рецепторных комплексов в ядрах и митохондриях до промоторов индуцируемых генов; 4) молекулярные механизмы противоположной направленности действия глюкокортикоидных гормонов на экспрессию генов в клетках печени и лимфоидной ткани; 5) экспрессия гормонзависимых генов и выяснение их роли в реализации эффекта глюкокортикоидных гормонов на клетки органов-мишеней; 6) роль взаимоотношений ядерного и митохондриального геномов в реализации эффектов глюкокортикоидных гормонов; 7) дальнейшая судьба глюкокортикоидных гормонов после их связывания с акцепторными сайтами в ядрах и митохондриях.

Список литературы

1. Германюк Я. Л., Минченко А. Г., Тронько Н. Д. Обмен рибонуклеиновых кислот в митохондриях селезенки при различном уровне кортикостероидных гормонов у белых крыс. — Физиология, биохимия и патология эндокринной системы, Киев, 1975, вып. 5, с. 65—67.
2. Германюк Я. Л., Минченко О. Г., Тронько М. Д. Вплив рибонуклеїнату натрію та АКТГ на обмін кортикостероїдів у білих щурів. — Фізіол. журн., 1976, 22, № 6, с. 760—763.
3. Германюк Я. Л., Минченко А. Г. Обмен РНК в митохондриях печени и сердца белых крыс в связи с адреналэктомией и введением гидрокортизона / Редкол. журн. Бюлл. эксп. биологии и медицины, М., 1976. 11 с. (Рукопись деп. в ВИНТИ, 1976, № 1051—76. Деп.).
4. Дударева Н. А., Дашкевич В. С., Салганик Р. И. Изменение состава нуклеотидных последовательностей в транскрипционно активной фракции ДНК печени крыс при индукции кортизолом. — Биохимия, 1980, 45, № 7, с. 1305—1311.
5. Дударева Н. А., Дашкевич В. С., Кузьменко А. П., Салганик Р. И. Изменение метилирования повторяющихся последовательностей транскрипционно активной ДНК печени крыс под действием кортизола. — Биохимия, 1981, 46, № 8, с. 1475—1481.
6. Комиссаренко В. П., Тронько М. Д. Сучасні уявлення про обмін стероїдних гормонів. — Фізіол. журн., 1974, 20, № 6, с. 723—729.

7. Комиссаренко В. П. Значение достижений в области молекулярной биологии и генетики для эндокринологии. — В кн.: Механизм действия гормонов: Тез. докл. респ. науч. конф. Киев, 1975, с. 3—7.
8. Константинова И. М., Куличкова В. А., Воробьев В. И. Исследование особенностей РНК, синтезируемой в клетках печени крыс при индукции кортизоном. — Цитология, 1977, 19, № 4, с. 398—403.
9. Константинова И. М., Куличкова В. А., Петухова О. А., Воробьев В. И. Двуспиральные структуры в составе поли(А)-содержащих РНК цитоплазмы клеток печени крыс. Влияние кортизона. — Молекуляр. биология, 1980, 14, № 6, с. 1354—1361.
10. Мертвецов Н. П. Множественные формы тирозинаминотрансферазы в клетках печени крыс и их роль в гомеостазе клетки. — Вопр. мед. химии, 1981, 27, № 2, с. 154—166.
11. Мертвецов Н. П., Чесноков В. Н., Блинова Н. Н. и др. Влияние гидрокортизона на свойства полирибосом печени крыс, метаболизм и матричную активность полисомной поли(А)-содержащей РНК. — Биохимия, 1978, 43, № 5, с. 919—927.
12. Мертвецов Н. П., Блинова Н. Н., Головин С. Я. и др. Влияние кортизола на синтез и свойства матричных РНК в печени крыс. — В кн.: 2-й Всесоюз. съезд эндокринологов. Л., 1980, с. 327—328.
13. Минченко А. Г. Роль глюкокортикоидных гормонов в регуляции биосинтеза белков в митохондриях печени. — В кн.: 2-й Съезд эндокринологов УССР. Киев, 1977, с. 48.
14. Минченко А. Г. Влияние АКТГ на включение ^{14}C -оротата в рибонуклеиновые кислоты митохондрий печени белых крыс. — Молекуляр. генетика и биофизика, 1977, вып. 2, с. 78—81.
15. Минченко А. Г. Влияние гидрокортизона на биосинтез рибонуклеиновых кислот в митохондриях печени, сердца и селезенки аллоксандиабетических крыс. — Пробл. эндокринологии, 1978, 24, № 1, с. 64—68.
16. Минченко А. Г. Влияние гидрокортизона на РНК-полимеразную активность митохондрий печени. — Молекуляр. генетика и биофизика, 1978, вып. 3, с. 111—114.
17. Минченко А. Г., Гаузе Г. Г. Характеристика популяций РНК из митохондрий печени нормальных и адреналэктомированных крыс. — В кн.: 4-й Всесоюз. биохим. съезд. М., 1979, т. 1, с. 156.
18. Минченко А. Г. Гормональный контроль экспрессии митохондриального генома в животных клетках. — Пробл. эндокринологии, 1981, 27, № 6, с. 74—79.
19. Платонов О. М., Герасимова Т. Б., Смалько П. Я. и др. Особенности транскрипции ядерного генома на ранних этапах регенерации печени. Возможная роль митохондриальной трансляции в активации биосинтеза ядерной РНК. — Биохимия, 1981, 46, вып. 11, с. 2074—2081.
20. Пономарев В. И. Влияние актиномицина Д и этионина на гормональную индукцию синтеза рибонуклеиновых кислот в ядрах и цитоплазме клеток печени неполовозрелых крыс-самцов. — Вопр. мед. химии, 1977, 23, № 1, с. 66—68.
21. Романов Г. А., Романова Н. А., Розен Б. В., Ванюшин Б. Ф. Глюкокортикоид-рецепторные комплексы печени крыс. II. Взаимодействие с естественными и синтетическими полинуклеотидами. — Молекуляр. биология, 1981, 15, № 4, с. 857—874.
22. Селезнев Ю. М., Данилов С. М., Волкова Н. Г., Медведева Л. А. Активация глюкокортикоидного циторецептора сердца крысы. — Биохимия, 1979, 44, № 2, с. 245—251.
23. Скрыбин К. Г., Томарев С. И., Гаузе Г. Г., Баев А. А. Клонирование митохондриальной ДНК крысы с использованием вектора с различающимися липкими концами. — Докл. АН СССР, 1978, 241, № 5, с. 1220—1223.
24. Юдаев Н. А., Афиногенова С. А., Булатов А. А. и др. Биохимия гормонов и гормональной регуляции. — М.: Наука, 1976. — 378 с.
25. Agarwal M. K. Physicochemical comparison of the glucocorticoid receptor from various tissues in the rat. — Int. J. Biochem., 1977, 8, № 1, p. 7—10.
26. Amar-Costesec A., Darte C. R., Cambron P., Rousseau G. G. Control of plasma membrane enzymes by glucocorticoids. — Biochem. Soc. Trans., 1981, 9, № 2, p. 43.
27. Ananthakrishnan R., Kulkarni S. B., Pradhan D. S. Nature of hydrocortisone-elicited amplification of template activity of liver chromatin. — Biochem. and Biophys. Res. Commun., 1979, 88, N 3, p. 1111—1118.
28. Anderson S., Bankier A. T., Barrell B. G. et al. Sequence and organization of the human mitochondrial genome. — Nature, 1981, 290, N 5806, p. 457—465.
29. Boer A., Oddos J. Cardiac receptor for glucocorticoids in the rat. Factors involved in ^3H -dexamethasone binding and nuclear translocation of ^3H -dexamethasone receptor complexes in heart and liver. — Biochim. et biophys. acta, 1979, 586, N 1, p. 70—86.
30. Borst P., Grivell L. A. Small is beautiful — portrait of a mitochondrial genome. — Nature, 1981, 290, N 5806, p. 443—444.
31. Chiapelli F., Haggerty D. F., Lynch M., Popjak G. Translation of phenylalanine hydroxylase — specific mRNA *in vitro*: evidence for pretranslational control of glucocorticoids. — Proc. Nat. Acad. Sci. U. S. A., 1981, 78, N 4, p. 2105—2109.
32. Climent F., Doenecke D., Beato M. Properties of the partially purified activated glucocorticoid receptor of rat liver. Binding to chromatin subunits. — Biochemistry, 1977, 16, N 21, p. 4694—4703.
33. Diesterhaft M., Noguchi T., Granner D. Regulation of rat liver tyrosine-aminotransferase mRNA by hydrocortisone and by N^6 , O^2 -dibutyryladenine 3',5'-phosphate. — Eur. J. Biochem., 1980, 108, N 2, p. 357—365.

34. Dobner P. R., Kawasaki E. S., Yu L.-Y., Bancroft F. G. Thyroid or glucocorticoid hormone induced pre-growth-hormone mRNA and its probable nuclear precursor in rat pituitary cells. — *Proc. Nat. Acad. Sci. U.S.A.*, 1981, 78, N 4, p. 2230—2234.
35. England J. M., Constantino P., Attardi G. Mitochondrial RNA and protein synthesis in enucleated african green monkey cells. — *J. Mol. Biol.*, 1978, 119, N 3, p. 455—462.
36. Exton J. H. Regulation of gluconeogenesis by glucocorticoids. — In: *Glucocorticoid Hormone Action*. Berlin etc., 1979, p. 535—546.
37. Ganguly R., Ganguly N., Mehta N. M., Banerjee M. R. Absolute requirement of glucocorticoid for expression of the casein gene in the presence of prolactin. — *Proc. Nat. Acad. Sci. U.S.A. Biol. Sci.*, 1980, 77, N 10, p. 6003—6006.
38. Giesen E. V., Bollack C., Beck G. Relations between steroid-cell contact, steroid-binding and induction of tyrosine aminotransferase. — *Mol. and Cell. Endocrinol.*, 1981, 22, N 2, p. 153—168.
39. Goodlad G. A. J., Onyazeli F. N. Glucocorticoids and muscle RNA: the effect of daily administration of prednisolone to rats on the turnover of gastrocnemius ribosomal RNA. — *Biochem. Med.*, 1981, 25, N 1, p. 34—47.
40. Govindan M. V. Purification of glucocorticoid receptor from rat liver cytosol. Preparation of antibodies against the major receptor proteins and application of immunological techniques to study activation and translocation. — *J. Steroid Biochem.*, 1979, 11, N 1A, p. 323—332.
41. Govindan M. V. Isolation and characterization of rat liver nuclear glucocorticoid receptor. — *Biochim. et biophys. acta*, 1980, 631, N 2, p. 327—333.
42. Hager L. J., Mc Knight G. S., Palmiter R. D. Glucocorticoid induction of egg white mRNA in chick oviduct. — *J. Biol. Chem.*, 1980, 255, N 16, p. 7796—7800.
43. Hamana K., Iwai K. Glucocorticoid receptor complex bind to nonhistone protein and DNA in rat liver chromatin. — *J. Biochem.*, 1978, 83, N 1, p. 279—286.
44. Harrison R. W., Balasubramanian K., Yeakley J. et al. Heterogeneity of AtT-20 cell glucocorticoid binding sites: evidence for a membrane receptor. — In: *Steroid Hormone Receptor Syst. Proc. Symp.* Shrewsbury, Mass. 1978, New York; London, 1979, p. 423—440.
45. Hofer E., Sekeris C. Cycloheximide causes increased accumulation of translatable mRNA for tyrosine aminotransferase and tryptophan oxygenase in livers of cortisol-treated rats. — *Eur. J. Biochem.*, 1978, 86, N 2, p. 547—554.
46. Johnson L. K., Nordeen S. K., Roberts J. L., Baxter J. D. Studies on the mechanism of glucocorticoid hormone action. — In: *Gene Regul. Steroid Horm.* New York etc., 1980, p. 153—185. Discuss., p. 185—187.
47. Kanasir D. T., Trajković D. P., Ribarac-Stepić N. et al. Metlaš R. Cortisol dependent acute metabolic responses in rat liver cells. — *J. Steroid Biochem.*, 1978, 9, N 5, p. 467—476.
48. Konstantinova I. M., Hanoco F., Vorob'ev V. I. Template-engaged and free RNA polymerase activities in rat liver nuclei after cortisone injection. — *FEBS Lett.*, 1980, 121, N 2, p. 299—302.
49. Kulkarni S. B., Netrawali M. S., Pradhan D. S. Nature of RNAs synthesised in rat liver in response to hydrocortisone. — *Mol. and Cell. Endocrinol.*, 1979, 13, № 3, p. 269—280.
50. Le Fevre B., Bally A., Sallas N., Milgrom E. Activated steroid-receptor complex. Comparison of assays using DNA-cellulose or homologous nuclei. — *Biochim. et biophys. acta*, 1979, 585, N 2, p. 266—272.
51. Lindahl T. DNA methylation and control of gene expression. — *Nature*, 1981, 290, N 5805, p. 363—364.
52. Litwack G. Modulator and the glucocorticoid receptor. — *Trends Biochem. Sci.*, 1979, 4, N 10, p. 217—220.
53. Mansour A. M., Nass S. In vivo cortisol action on RNA synthesis in rat liver nuclei and mitochondria. — *Nature*, 1970, 228, N 5272, p. 665—667.
54. Mansour A. M., Nass S. RNA synthesis in rat liver after cortisol treatment: a possible mitochondrial-nuclear relationship. — *Acta endocrinol.*, 1974, 77, N 2, p. 298—309.
55. Moudgil V. K., John J. K. ATP-dependent activation of glucocorticoid receptor from rat liver cytosol. — *Biochem. J.*, 1980, 190, N 3, p. 799—808.
56. Onyazeli F. N., Goodlad G. A. J. RNA-polymerase and ribonuclease activity in skeletal muscle of prednisolone-treated rats. — *Enzyme*, 1981, 26, N 4, p. 211—214.
57. Papamichail M., Ioannidis C., Tsawdaroglou N., Sekeris C. E. Translocation of glucocorticoid receptor from the cytoplasm into the nucleus of phytohemagglutinin-stimulated human lymphocytes in the absence of the hormone. — *Exp. Cell. Res.*, 1981, 133, N 2, p. 461—465.
58. Pinon H., Barat M., Tourte M. et al. Evidence for a mitochondrial chromosome in *Xenopus laevis* oocytes. — *Chromosoma (Berl.)*, 1978, 65, № 4, p. 383—389.
59. Roewekamp W. G., Hofer E., Sekeris C. E. Translation of mRNA from rat liver polyosomes into tyrosine aminotransferase and tryptophan oxygenase in a protein synthesizing system from wheat germ. Effect of cortisol on the translatable levels of mRNA for these two enzymes. — *Eur. J. Biochem.*, 1976, 70, N 1, p. 259—268.
60. Salganik R., Drevich V. Induction of transcription and translation in liver cells: fractionation and properties of the induced cells. — *Eur. J. Cell Biol.*, 1980, 22, N 1, p. 46.

61. Smith P., Holt C. Interaction of the activated cytoplasmic glucocorticoid hormone receptor complex with the nuclear envelope. — *Biochemistry*, 1981, 20, N 10, p. 2900—2908.
62. Sokół-Misiak W. The effect of glucocorticoid-receptor complex on transcriptional activity of nuclei isolated from mammary gland of pregnant rabbit pretreated in vivo with methyrapone. — *Bull. de l'Acad. Pol. des sciences*, 1980, 28, N 12, p. 733—739.
63. Teyssot B., Houdebine L.-M. Role of progesterone and glucocorticoids in the transcription of the β -casein and 28S ribosomal genes in the rabbit mammary gland. — *Eur. J. Biochem.*, 1981, 114, N 3, p. 597—608.
64. Thompson E. B., Venetianer A., Gelehrter T. D. et al. Multiple action of glucocorticoids studies in cell culture systems. — In: *Gene Regul. Steroid Horm.* New York etc., 1980, p. 126—151. Discuss. p. 151—152.
65. Tsawdaroglou N. G., Govindan M. V., Schmid W., Sekeris C. E. Dexamethasone-binding proteins cytosol and nucleus of rat thymocytes. Purification of these receptor proteins. — *Eur. J. Biochem.*, 1981, 114, N 2, p. 305—313.
66. Van Tuyle G. C., Mc Pherson M. L. A compact form of rat liver mitochondrial DNA stabilized by bound proteins. — *J. Biol. Chem.*, 1979, 254, N 13, p. 6044—6053.
67. Wrangé O., Carlstedt-Duke J., Gustafsson J.-A. Purification of the glucocorticoid receptor from rat liver cytosol. — *J. Biol. Chem.*, 1979, 254, N 18, p. 9284—9290.
68. Yu F.-L., Feigelson P. A proposed model for the glucocorticoid regulation of rat hepatic ribosomal RNA synthesis. — *Biochem. and Biochys. Res. Commun.* 1973, 53, N 3, p. 754—760.

Киевский институт
эндокринологии и обмена веществ

Поступила в редакцию
11.I 1982 г.