

15. Hegner D. Age-dependence of molecular and functional changes in biological membrane properties.—Mech. Ageing Develop., 1980, 14, № 1—2, p. 101—118.
16. Kernan R. P. Membrane potential change during sodium transport in frog sartorius muscle.—Nature, 1962, 193, N 4719, p. 986—987.
17. Logan J. G., O'Donovan D. J. The effect of noradrenaline, 5-hydroxyptamine and dopamine on synaptic membrane ATPases.—J. Physiol., 1975, 250, N 1, p. 47—49.
18. Moore R. D., Rabovsky J. L. Mechanism of insulin action on resting membrane potential of frog skeletal muscle.—Amer. J. Physiol., 1979, 236, N 5, p. 249—254.
19. Page E., Storm S. R. Cat heart muscle *in vitro*. VIII. Active transport of sodium in papillary muscles.—J. Gen. Physiol., 1965, 48, N 5, p. 957—972.

Ин-т геронтологии АМН СССР, Киев

Поступила 15.12.83

УДК 615.35:615.216:577.15.085

В. И. Коркач, В. В. Ткачук

ВЛИЯНИЕ АКТГ И ГИДРОКОРТИЗОНА НА СОДЕРЖАНИЕ НАТРИЯ, КАЛИЯ, КАЛЬЦИЯ, МАГНИЯ И Ca^{2+} -АТФАЗНУЮ АКТИВНОСТЬ СКЕЛЕТНЫХ МЫШЦ

Известно, что гормоны системы гипофиз — кора надпочечников влияют на содержание ионов натрия, калия, кальция в биологических жидкостях и некоторых тканях человека и животных. Так, после удаления надпочечников у животных в плазме крови уменьшается количество воды, натрия, хлора и увеличивается количество калия [4]. Введение АКТГ повышает концентрацию ионов натрия и хлора и уменьшает содержание калия и фосфора в сыворотке крови людей [9].

Описано влияние глюкокортикоидов на ионный обмен в тканях нервной системы [1], скелетных мышцах [8], миометрии [22], молочной железе [15] и почках [13]. Глюкокортикоиды снижают всасывание кальция в кишечнике, повышают его экскрецию с мочой [10], повышают поглощение кальция и магния костной тканью и уменьшают выделение фосфора [14].

Вместе с тем влияние глюкокортикоидов и особенно АКТГ на содержание ионов и активность Ca^{2+} -АТФазы в скелетных мышцах изучено недостаточно, что и явилось целью настоящей работы.

Методика

Исследования проведены на крысах-самцах массой 180—200 г. Через 3 ч после внутрибрюшинного введения 2 ед. АКТГ или 5 мг гидрокортизона-гемисукцината на 100 г массы животных обезглавливали, получали кровь для определения 11-оксикортикостероидов и иссекали икроножные мышцы, в которых определяли содержание натрия, калия, кальция и магния, а также Ca^{2+} -АТФазную активность саркоплазматического ретикулума.

Содержание ионов определяли методом атомно-абсорбционной спектрофотометрии на спектрофотометре С-302 [5]. Уровень 11-оксикортикостероидов (11-ОКС, гидрокортизона и кортикостерона) в плазме крови определяли унифицированным флуориметрическим методом [6].

Саркоплазматический ретикулум из икроножных мышц выделяли по Ритову [7] в среде, содержащей 0,3 моль/л сахарозы, 10 ммоль/л гистидина (рН 7,4), 10 мкмоль/л фенилметилсульфонилфторида, 0,6 моль/л KCl, 0,6 мг/мл сывороточного альбумина человека, 2,5 ммоль/л имидазола. Степень его чистоты определяли по тест-ферментам: сукцинатдегидрогеназе и Na^+ , K^+ -АТФазе.

Активность аденозинтрифосфатазы Ca^{2+} -активируемой (АТФ-фосфогидролаза, КФ 3.6.1.3) определяли по [18] как разницу между Ca^{2+} , Mg^{2+} -АТФазой (общей) и Mg^{2+} -АТФазой (базальной, Ca^{2+} -независимой) активностью.

Активность Ca^{2+} , Mg^{2+} -АТФазы определяли в среде, содержащей 10 ммоль/л гистидина (рН 6,5), 120 ммоль/л KCl, 5 ммоль/л MgCl_2 , 100 мкмоль/л CaCl_2 , 5 ммоль/л

АТФ-натриевой соли, 100 мкг белка саркоплазматического ретикулула. Mg^{2+} -АТФазную активность определяли в среде, содержащей 10 ммоль/л гистидина (рН 6,5), 120 ммоль/л KCl, 5 ммоль/л $MgCl_2$, 5 ммоль/л АТФ-натриевой соли, 0,1 ммоль/л ЭГТА, 100 мкг белка саркоплазматического ретикулула. Реакция протекала в течение 5 мин при 37°C. Ее прекращали, добавляя 0,5 мл 20 % раствора трихлоруксусной кислоты. Активность АТФазы выражали в нанокаталах на 1 мг белка, что равнозначно наномоль/с·мг.

Фосфор определяли по Фиске и Суббароу [12]. Результаты опытов обработаны методами вариационной статистики.

Результаты и их обсуждение

Опыты показали, что через 3 ч после введения АКТГ в плазме крови крыс содержание гидрокортизона увеличивается в 3,2 раза, кортикостерона — в 3 раза, а их сумма увеличивается в 3,3 раза по сравнению с контрольными животными, которым внутрибрюшинно вводили 0,5 мл на 100 г физиологического раствора 37°C (табл. 1). Через 3 ч после введения гидрокортизона содержание его в плазме крови увеличилось в 3,1 раза, кортикостерона — в 2 раза, а их сумма — в 2,57 раза (табл. 1).

Таблица 1. Содержание 11-оксикортикостероидов (в мкг на 100 мл плазмы) в плазме крови крыс через 3 ч после внутрибрюшинного введения 2 ед. АКТГ или 5 мг гидрокортизона на 100 г массы ($M \pm m$)

Гормоны	Контроль (12)	АКТГ (9)	Гидрокортизон, (16)
Кортикостерон	8,48±3,45	25,74±3,33***	16,96±1,75**
Гидрокортизон	9,04±1,98	29,04±4,25***	28,12±3,13***
Сумма	17,52±3,45	57,78±7,07***	45,08±3,63***

Примечание. В скобках указано количество опытов. *— $p < 0,05$, **— $p < 0,01$; ***— $p < 0,001$, по сравнению с контролем.

Таблица 2. Содержание ионов натрия, калия, кальция и магния (в ммоль на 1 кг сухой ткани) в икрожных мышцах крыс через 3 ч после внутрибрюшинного введения 2 ед. АКТГ или 5 мг гидрокортизона на 100 г массы ($M \pm m$)

Ионы	Контроль (14)	АКТГ (8)	Гидрокортизон (8)
Натрий	119,1±5,6	127,4±9,1	148,8±8,6*
Калий	1086,6±31,6	935,2±31,1*	989,0±16,2*
Кальций	8,3±0,3	7,5±0,7	6,4±0,3**
Магний	56,8±5,5	75,8±6,2*	78,2±8,1*

Исследование содержания катионов в икрожных мышцах этих крыс показало, что через 3 ч после введения АКТГ содержание натрия и кальция не изменилось, тогда как калия — снизилось на 13,9 %, а магния — увеличилось на 33,2 % (табл. 2).

Как видно, после введения гидрокортизона изменения ионного состава мышц более существенны, чем после введения АКТГ — в этих опытах наблюдается лишь тенденция к повышению содержания натрия, но достоверно повышается содержание магния и снижается содержание калия и кальция.

Показано [1], что через 3 ч после введения крысам 1—5 мг/100 г гидрокортизона обменные потоки натрия в срезах гиппокампа увеличиваются.

Введение гидрокортизона людям снижает концентрацию калия в сыворотке крови [20]. Содержание калия в мышцах резко снижается и при стрессе [2]. Более того, установлена определенная зависимость между содержанием АКТГ в плазме крови и экскрецией натрия. Так,

в плазме крови больных содержание АКТГ значительно превышает его [16].

Более четкое влияние АТФазную активность саркоплазматического ретикулула мышц крыс.

Как видно из табл. 3, введения крысам АКТГ общего ретикулула повысилась зависимость, экстракальциевая (базальная, Ca^{2+} -независимая).

Таблица 3. Активность АТФ белка в икрожных мышцах крыс 5 мг гидрокортизона

Условия опыта	Общая
Контроль (18)	89,50±
АКТГ (6)	141,33±
Гидрокортизон (9)	148,16±

Таблица 4. Влияние гидрокортизона на выделенной из саркоплазматического ретикулула

Условия опыта	
Исходная	14
После прибавления гидрокортизона:	
$2,8 \times 10^{-7}$ моль/л	1
$2,8 \times 10^{-8}$ моль/л	14
$2,8 \times 10^{-9}$ моль/л	14

Через 30 мин после введения АТФазная активность саркоплазматического ретикулула составила 65,54 %. Однако Ca^{2+} -зависимая стала выше на 11 %.

Повышение Ca^{2+} -АТФазной активности саркоплазматического ретикулула указывает, что в условиях избыточного количества саркоплазматического ретикулула скелетных мышц для более значительного стимуляции мышечной активности. Таким образом, введение гидрокортизона можно объяснить стимуляцией скелетных мышц, которую наблюдают у кроликов и крыс [3].

В случаях введения гидрокортизона изменяется, но повышает вирусную активность АТФазы, может сопровождаться накоплением кальция в саркоплазматическом ретикулуле [21]. В результате сокращения энергии гидролиза АТФ, тельно, наши опыты показывают, что гидрокортизон, работоспособность.

в плазме крови больных с врожденной гиперплазией надпочечников содержание АКТГ значительно выше у теряющих натрий, чем у сохраняющих его [16].

Более четкое влияние АКТГ и гидрокортизона проявляется на АТФазную активность саркоплазматического ретикулума икроножных мышц крыс.

Как видно из табл. 3, через 30 мин после внутрибрюшинного введения крысам АКТГ общая АТФазная активность саркоплазматического ретикулума повысилась на 57,9 %. При этом, Ca^{2+} -АТФазная (Ca^{2+} -зависимая, экстракальциевая) увеличилась на 142,0 %, а Mg^{2+} -АТФазная (базальная, Ca^{2+} -независимая) — не изменилась.

Таблица 3. Активность АТФазы саркоплазматического ретикулума (в нкат на 1 мг белка) в икроножных мышцах крыс после внутрибрюшинного введения 2 ед. АКТГ или 5 мг гидрокортизона на 100 г массы ($M \pm m$)

Условия опыта	Активность АТФазы		
	Общая	Базальная	Экстракальциевая
Контроль (18)	89,50±9,00	45,70±5,80	43,80±4,00
АКТГ (6)	141,33±1,16***	35,33±3,17	106,00±3,16***
Гидрокортизон (9)	148,16±13,33**	98,16±17,33**	50,00±7,33

Таблица 4. Влияние гидрокортизона на активность АТФазы (в нкат на 1 мг белка), выделенной из саркоплазматического ретикулума скелетных мышц кролика в опытах *in vitro* ($M \pm m$; $n=6$)

Условия опыта	Активность АТФазы		
	Общая	Базальная	Экстракальциевая
Исходная	147,83±0,83	16,50±0,66	131,33±0,65
После прибавления гидрокортизона:			
$2,8 \times 10^{-7}$ моль/л	113,66±1,33***	12,66±0,65**	101,00±0,66***
$2,8 \times 10^{-8}$ моль/л	184,33±1,32***	12,16±1,66**	200,33±0,33***
$2,8 \times 10^{-9}$ моль/л	188,83±1,16***	15,33±0,65	173,50±0,66***

Через 30 мин после введения 5 мг/100 г гидрокортизона крысам АТФазная активность саркоплазматического ретикулума повысилась на 65,54 %. Однако Ca^{2+} -АТФазная активность не изменилась, а базальная стала выше на 114,8 % по сравнению с контролем.

Повышение Ca^{2+} -АТФазной активности саркоплазматического ретикулума указывает, что введение АКТГ создает условия для аккумуляции избыточного количества кальция в цистернах саркоплазматического ретикулума скелетных мышц, а следовательно, появляется возможность для более значительного высвобождения его в миоплазму во время стимуляции мышцы и повышения ее сократительной активности. Таким образом, активацией Ca^{2+} -АТФазы саркоплазматического ретикулума можно объяснить повышение сократительной способности скелетных мышц, которое мы наблюдали в ответ на введение АКТГ кроликам и крысам [3].

В случаях введения гидрокортизона активность Ca^{2+} -АТФазы не изменяется, но повышается базальная, Ca^{2+} -независимая, Mg^{2+} -активируемая активность АТФазы саркоплазматического ретикулума, что может сопровождаться нарушением сопряжения гидролиза АТФ с аккумуляцией кальция в цистернах саркоплазматического ретикулума [21]. В результате сократительная активность мышц будет снижаться, а энергия гидролиза АТФ высвобождаться в виде тепла. И действительно, наши опыты показали, что у кроликов и крыс, получавших гидрокортизон, работоспособность мышц снижалась, а прирост темпе-

ратуры мышцы в связи с ее деятельностью был значительно большим, чем у контрольных животных [3].

Аналогичные данные получены нами и в опытах *in vitro*, в которых изучали влияние гидрокортизона на активность АТФазы, выделенной из саркоплазматического ретикулума скелетных мышц [7]. В этих опытах гидрокортизон-гемисукцинат в концентрации $2,8 \times 10^{-7}$ моль/л снижал общую активность АТФазы на 23,11 % ($p < 0,001$). При этом Ca^{2+} -зависимая, экстракальциевая активность снижалась на 23,09 % ($p < 0,001$), а Ca^{2+} -независимая, базальная — на 23,23 % ($p < 0,01$; табл. 4).

Эти данные указывают, что влияние гидрокортизона на активность АТФазы саркоплазматического ретикулума скелетных мышц может реализоваться помимо рецепторного механизма, путем прямого взаимодействия гормона с ферментным белком. Такие эффекты не исключены и в целостном организме, так как гидрокортизон свободно проникает через клеточную мембрану.

Наряду с этим следует отметить, что реакция АТФазы зависит от концентрации гидрокортизона в среде. Так, в концентрации $2,8 \times 10^{-8}$ моль/л гидрокортизон повышал общую и Ca^{2+} -зависимую активность АТФазы саркоплазматического ретикулума скелетных мышц, соответственно на 24,69 % ($p < 0,001$) и на 59,39 % ($p < 0,001$), но снижал ее Ca^{2+} -независимую активность на 26,26 % ($p < 0,01$). В концентрации $2,8 \times 10^{-9}$ моль/л гидрокортизон повышал общую активность АТФазы на 27,73 % ($p < 0,001$), а Ca^{2+} -зависимую активность — на 31,10 % ($p < 0,001$), но не изменял Ca^{2+} -независимую, базальную активность АТФазы (табл. 4).

Таким образом, проведенные исследования показывают, что гидрокортизон снижает в мышцах содержание калия и кальция, но повышает содержание натрия и магния. После введения гидрокортизона животным в скелетных мышцах повышается базальная, Ca^{2+} -независимая активность АТФазы саркоплазматического ретикулума, но не изменяется Ca^{2+} -АТФазная активность.

В опытах *in vitro* в высоких концентрациях гидрокортизон снижает Ca^{2+} -зависимую и Ca^{2+} -независимую активность АТФазы саркоплазматического ретикулума. В концентрациях более низких, наоборот, он повышает активность АТФазы, выделенной из саркоплазматического ретикулума скелетных мышц.

При введении АКТГ, в отличие от гидрокортизона, содержание ионов калия снижалось, магния — увеличивалось, а кальция и натрия не изменялось. Ca^{2+} -АТФазная активность саркоплазматического ретикулума повышалась как в опытах *in vivo*, так и *in vitro*.

V. I. Korkach, V. V. Tkachuk

INFLUENCE OF ACTH AND HYDROCORTISONE ON THE SODIUM, POTASSIUM, CALCIUM AND MAGNESIUM CONTENT AND ON THE Ca^{2+} -ATPase ACTIVITY OF THE SKELETAL MUSCLES

3 hours after intraperitoneal hydrocortisone injection (5 mg/100 g) to rats the content of potassium and calcium in muscles decreases and that of sodium and magnesium increases. ACTH (2 IU/100 g) 3 hours after injection enhanced the hydrocortisone and corticosterone concentration in the rat blood plasma and in the muscles it lowered the potassium content and increased the magnesium one. The activity of Ca^{2+} -ATPase of the sarcoplasmic reticulum was unchanged and that of Mg^{2+} -ATPase increased. ACTH raised the Ca^{2+} -ATPase activity and decreased the Ca^{2+} -ATPase one of the sarcoplasmic reticulum of gastrocnemius muscles. In the *in vitro* experiments hydrocortisone in the concentrations of $2,8 \cdot 10^{-7}$ mol/l lowered, and in the concentrations of $2,8 \cdot 10^{-8}$ – $2,8 \cdot 10^{-9}$ raised the Ca^{2+} -dependent and Mg^{2+} -dependent activity of ATP isolated from the sarcoplasmic reticulum of the rabbit skeletal muscles.

Medical Institute, Kiev

1. Емельянов Н. А., Бага в срезах гиппокампа кт
2. Кисляков Ю. А., Леон газовой среды на соде сы.— Физиол. журн. СС
3. Коркач В. И. Роль АТ на.— Киев: Здоров'я, 1
4. Лебедев В. П., Вельти ников в регуляции дея 14, № 8, с. 47–52.
5. Прайс В. Аналитичес 355 с.
6. Резников А. Г. Метод
7. Ритов В. Б. Молекуляр симой АТФ-азы сарко М., 1977, с. 5–77. (Ит
8. Румель А. Г. Значени ролитного равновесия
9. Слободской В. Р., Ко левого обмена в орг № 2, с. 67–71.
10. Avioli L. V. Glucocort 34, N 6, p. 578–582.
11. (Bendall J. R.) Бенде 256 с.
12. Fiske C. H., Subbaro Chem., 1925, 66, N 1,
13. Frebberg J. M., Kinse and decrease the Na⁺ border membrane ves p. 4932–4936.
14. Keck E., West T. B., of human trabecular b
15. Keenan B. S., Buzck of sodium and potassi 261.
16. La Franchi S. Plasm sia. Importance of lor p. 1068–1072.
17. Lowry O. H., Rosenb the folin phenol reage
18. Martonosi A., Fereto mic fragments.— J. R
19. (McMurray W. C.) M 368 с.
20. Oberfield S. E., Levin ses to hydrocortisone Endocrinol. and Meta
21. Shamoo A. E., Gold and their role in en p. 13–53.
22. Zasztowi O. Inifluen N 5, p. 649–657.

Киев. мед. ин-т

УДК 612.73:612.815

В. П.

НА СИНАПТИ ЖЕЛУДОЧНО

Известно, что редаче. При депол импульсом, внекле

Физиол. журн., 1985,

Физиол. журн., 1985, т. 31, № 4