

НОВЕ УЯВЛЕННЯ ПРО ВЗАЄМОЗВ'ЯЗОК ФУНКЦІЙ КЛІТИНИ ТА БІОСИНТЕЗУ БІЛКА

В. В. Фролькіс

Інститут геронтології АМН СРСР, Київ

Проблема взаємовідношення обміну речовин і функції клітин була і залишається центральною в сучасній фізіології і біохімії. Знання цих взаємовідношень дозволить зрозуміти фундаментальні механізми діяльності клітин, їх об'єднання у складні системи.

У ході тривалої еволюції живого — від простішого клубочка протоплазми до нескінченно складного організму людини — істотно змінювався характер, темп і спрямованість перебігу обмінних процесів. Це вело до удосконалення функцій клітин та діяльності цілісного організму, що розгорнулося на цій основі.

Структурною, пластичною основою різних аспектів діяльності клітин є білкові молекули. Скорочення м'язових волокон, проникність клітинних мембран, утворення гормонів та інші процеси розгортаються в результаті змін білкових молекул. Перебіг будь-якої обмінної реакції, здійснення будь-якої функції клітини відбувається при участі ферментів, які є білками.

Ось чому порушення процесу біосинтезу білка неминуче призводить до грубих змін функції клітин, діяльності організму. Водночас, різка активація функцій, тривала напружена діяльність приводять до значного посилення процесу утворення білків, процесу пластичного забезпечення функції. Широко відомий розвиток гіпертрофії серця, скелетних м'язів при їх напруженій діяльності; збільшення ваги одного з органів при видаленні другого (нирки, надниркові залози); гіпертрофія залишеної частини органа після резекції іншої (печінка, селезінка тощо). У всіх цих випадках збільшення навантаження, посилення діяльності клітин приводять до стимуляції процесів утворення білка і в результаті цього до підтримання необхідного рівня функції клітин, збільшення їх маси, розмірів тощо.

Так працями Меерсона [5] було показано, що уже в першій стадії розвитку гіперфункції серця відзначається швидке збільшення загального вмісту РНК, білків і ДНК в міокарді, посилення включення мічених попередників у білки і нуклеїнові кислоти, збільшення концентрації білків мітохондрій, їх площі тощо.

Ця проблема пластичного забезпечення функцій ґрунтується на уявленні про «готовий» білок як структурний фундамент різних проявів діяльності клітини. Актomioзинова нитка скорочується, холінорецептор змінює свою конфігурацію, дихальні ферменти переносять електрони тощо — у всіх цих випадках функція розвивається на основі вже зібраних білкових молекул.

Водночас ми гадаємо, що існує й інший важливий механізм взаємозв'язку пластичних процесів і функцій. Ми його визначили так: «функції клітин, спряжені з процесом біосинтезу білка» [12].

Біосинтез білка, збірка готових білкових молекул — це складний, багатоланковий саморегульований процес. Одним з найвидатніших

досягнень науки в останнє десятиріччя було розкриття механізму утворення білка на генетичному апараті клітини. Регулювання активності окремих комплексів ДНК, синтез інформаційної РНК, пересування амінокислот на основі транспортної ДНК, збирання білка в рибосомах — тільки деякі ланки цього складного процесу.

На етапах транскрипції і трансляції генетичної інформації відбуваються складні метаболічні зміни, іонні зрушення. Процес деспіралізації ДНК, утворення і перенос інформаційної рибонуклеїнової кислоти, пересування транспортної РНК, збирання білка в рибосомах та інші етапи процесу біосинтезу білка здійснюються в умовах зміни енергетичного балансу клітини, супроводжуються зв'язуванням і вивільненням багатьох іонів, в тому числі й іонів натрію і калію. У відповідності з схемою Жакоба та Мано [21], реалізація генетичної інформації, що міститься в молекулі ДНК, здійснюється при участі генів-регуляторів, генів-операторів, структурних генів і зворотних зв'язків з цитоплазми клітин. Уже на цьому етапі багатоланкового процесу біосинтезу білка здійснюються міжмолекулярні реакції, енергетичні зрушення, іонні пересування. Локалізація окремих ланок біосинтезу білка сама по собі визначає залучення у цей процес різних органодів клітини. Більше того, великим циклом праць показано, що окремі ланки системи біосинтезу білка (ДНК, РНК) розташовані не тільки в ядрі і рибосомах, але й у мітохондріях, у мембранах клітини [10]. Припускається, що тут може відбуватися самостійний, очевидно, генетично не зумовлений біосинтез білка.

Отже, в ході біосинтезу білка інтегруються різні органоди клітини, виникають потужні метаболічні зрушення.

Одним з чудових засобів економізації життєдіяльності організму є спряження, сполучення різних процесів у досягненні єдиної мети. Так, наприклад, у процесі утворення енергії одночасно досягаються вивільнення клітини від ряду метаболітів; у білку м'язів спряжені скоротливі і ферментні властивості тощо.

Ми гадаємо, що в перебігу постійного багатоланкового процесу утворення білка здійснюються метаболічні зрушення, що визначають багато функцій клітини.

Якщо досі основну увагу дослідники привертали до розгортання функціональних проявів клітини на основі готових білкових молекул, то наша концепція підкреслює зв'язок функцій клітини з самою «збіркою» цієї молекули.

В останніх наших дослідженнях ми дістали пряме підтвердження існування цього важливого механізму діяльності клітин. Відомо, що поряд з існуванням великих функціональних відмінностей клітини мають багато спільних фундаментальних біологічних властивостей. Серед них провідне місце посідає здатність клітин відповідати на різні впливи процесами збудження і гальмування. У здійсненні цих властивостей клітини велика роль належить рівню поляризації її поверхневої мембрани, мембранного потенціалу. Мембранний потенціал — це своєрідний сигнальний апарат клітини, його зрушення запускають дальші зміни у клітині при впливі на неї різних факторів. Процес збудження супроводжується зменшенням величини мембранного потенціалу, деполаризацією. Багато видів гальмування пов'язано зі збільшенням рівня поляризації мембрани, її гіперполяризацією. Взаємозв'язок обмінних процесів та рівня поляризації мембрани багато в чому визначає збудливість різних клітин.

Класичним об'єктом для вивчення співвідношень метаболізму тканин і механізму виникнення електричних потенціалів у клітині є м'язові волокна. Відомо, що через 30—40 хв після денервації або відразу після введення інсуліну величина мембранного потенціалу м'язових волокон

підвищується, розвивається гіперполяризація. Огляд цих праць можна знайти в останній монографії Сорохтіна [8]. На першому етапі наших досліджень ми разом з О. А. Мартиненко намагалися встановити, як впливає порушення різних ланок складної системи біосинтезу білка на розвиток гіперполяризації м'язових волокон. З цією метою були застосовані інгібітори біосинтезу білка, які порушують різні етапи збірки білкової молекули. Піддослідним щурам вводили актиноміцин Д (5—10 $\text{мкг}/100 \text{ г}$), який блокує структурні гени ДНК і перешкоджає утворенню на ній інформаційної РНК; рибонуклеазу (300—500 $\text{мкг}/100 \text{ г}$), яка руйнує молекулу рибонуклеїнової кислоти; пуроміцин (0,05—0,15 $\text{г}/100 \text{ г}$), що блокує процес збірки молекули білка в рибосомах. Мембранний потенціал м'язових волокон п. *gastrocnemius* вимірювали мікroeлектродами за загальноприйнятою методикою [3].

Всі інгібітори біосинтезу білка вводили у дозах, які самі не викликають зміни величини мембранного потенціалу клітин. Виявилось, що всі речовини, які блокують процеси біосинтезу білка, запобігають розвитку гіперполяризації м'язових волокон.

Як видно з табл. 1, А, перерізання сідничного нерва, введення інсуліну (0,16 $\text{од}/100 \text{ г}$) вже через 30—40 хв викликає збільшення мембранного потенціалу м'язових волокон на 6—8 мв . Попереднє введення інгібіторів біосинтезу білка — актиноміцину Д, рибонуклеази, пуроміцину запобігало розвитку гіперполяризації (табл. 1, Б). Сорохтін [8] визначає гіперполяризацію після денервації як пасивну гіперполяризацію, а після введення інсуліну — як активну. У наших дослідках інгібітори біосинтезу білка виключали як пасивну, так і активну гіперполяризацію. Можна було гадати, що цей ефект впливу інгібіторів біосинтезу білка на гіперполяризацію м'язових волокон не специфічний. Можливо, й інші речовини, що токсично впливають на клітини, відтворюють цей феномен.

Таблиця 1

Вплив інгібіторів білкового синтезу на величину гіперполяризації м'язових волокон, викликану інсуліном і денервацією
(А — зміна мембранного потенціалу під впливом денервації та інсуліну; Б — те саме на фоні введення інгібітора біосинтезу білка)

А			Б				
Час	Денервація	Інсулін	Інгібітори біосинтезу білка	Вихідна величина МП	Величина МП через 1 год після введення інгібіторів	Величина МП через 30 хв після денервації	Величина МП через 1 год після введення інсуліну
0 вих. МП	80,3 $\pm$ 0,1	81,2 $\pm$ 0,08	РНК-аза	79,8 $\pm$ 1,3	80,3 $\pm$ 1,0	81,0 $\pm$ 0,7	80,4 $\pm$ 1,0
15 хв	83,4 $\pm$ 0,4	—	АКМ-Д	81,1 $\pm$ 0,9	80,2 $\pm$ 1,0	79,0 $\pm$ 2,5	79,8 $\pm$ 1,5
30 хв	87,3 $\pm$ 0,3		Пуроміцин	81,2 $\pm$ 2,2	81,4 $\pm$ 1,6	79,1 $\pm$ 1,6	80,1 $\pm$ 1,5
1 год	86,7 $\pm$ 0,4	88,1 $\pm$ 1,4					
2 год	85,5 $\pm$ 0,4	84,0 $\pm$ 0,88					
3 год	83,7 $\pm$ 0,3	82,6 $\pm$ 0,8					
4 год	82,3 $\pm$ 0,3						

Відома роль енергетичних процесів в активному механізмі підтримання певного рівня поляризації мембран, збудливості клітин [14, 17, 19, 20]. Інгібітори енергетичних процесів приводять до зменшення величини мембранного потенціалу клітини, до подовження періоду реполяризації потенціалу дії. Припускають зв'язок цих зрушень з пригніченням діяльності активного калій-натрієвого насоса. На дальшому етапі досліджень В. Г. Коротоножкін вивчав вплив інгібіторів енергетичного обміну на розвиток гіперполяризації м'язових волокон. Були застосо-

вані фтористий натрій (0,01 М/100 г), що блокує активність фосфоглюкомутази, енолази і гальмує гліколіз; моноіодацетат (0,005 М/100 г), що пригнічує активність фосфоглюкомутази, дегідрогенази тріозофосфату і подавляє гліколіз; 2,4-динітрофенол (0,002 М/100 г), що відокремлює окислення і фосфорилування. У застосованих концентраціях усі ці інгібітори енергетичного обміну приводили до зменшення величини мембранного потенціалу клітини, але не запобігали розвитку гіперполяризації після денервації або введення інсуліну (табл. 2). Водночас

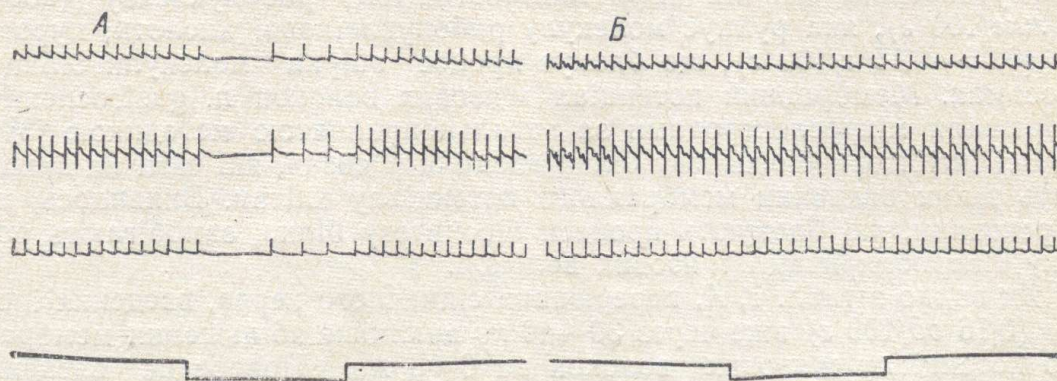


Рис. 1. Вплив рибонуклеази на негативну хронотропну дію блукаючого нерва на серце.

А — зміна ритму серцевої діяльності при електричній стимуляції блукаючого нерва (0,8 в).
Б — виключення негативного хронотропного впливу блукаючого нерва на серце через 10 хв після внутрішнього введення щору 500 мкг/100 г рибонуклеази.

інгібітори біосинтезу білка, застосовані в дозах, що не змінюють рівень поляризації мембрани, перешкоджали розвитку гіперполяризації. Очевидно, спряження функції клітини з біосинтезом білка є важливим активним механізмом підтримання певного рівня поляризації мембрани, збудливості клітин.

Розвиток гіперполяризації клітин лежить в основі механізму багатьох важливих фізіологічних процесів.

У 1887 р. Гаскелл [18], а в 1917 р. Самойлов [7] описали позитивний вплив коливання струму спокою міокарда, яке виникає при подразненні блукаючого нерва. Згодом Кастілло та ін. [15, 16], реєструючи мікроелектродами мембранні потенціали клітин синусного вузла, відзначили розвиток їх гіперполяризації при подразненні блукаючого нерва.

У проведених нами експериментах досліджували вплив різних інгібіторів біосинтезу білка — актиноміцину Д, рибонуклеази, сарколізину на розвиток брадикардії при подразненні блукаючого нерва у білих щурів. Виявилось, що інгібітори біосинтезу білка через 5—15 хв після введення ослаблюють або повністю виключають негативний хронотропний вплив блукаючого нерва на серце (рис. 1). Відведення локальних потенціалів від різних відділів серця показало, що в цих умовах не відзначена гіперполяризація м'язових волокон міокарда. Після дії

Таблиця 2

Розвиток гіперполяризації м'язових волокон після денервації і введення інсуліну на фоні інгібіторів вуглеводного обміну

Інгібітори вуглеводного обміну	Вихідна величина МП	Величина МП через 1 год після введення інгібітора	Величина МП через 30 хв після денервації	Величина МП через 1 год після введення інсуліну
Фтористий натрій	82,6±0,6	76,2±0,9	81,8±0,8	79,5±0,75
МІА	81,6±0,6	74,6±1,0	80,1±0,2	80,3±0,6
2,4-ДНФ	81,5±0,5	73,9±1,1	80,8±1,2	81,8±0,8

інгібіторів біосинтезу білка не розвивається позитивне коливання струму спокою міокарда при подразненні блукаючого нерва. Про зв'язок цих факторів з пригніченням біосинтезу білка свідчить те, що введення рибонуклеїнової кислоти в ряді дослідів відновлює вплив блукаючого нерва на серце. Слід брати до уваги, що гіперполяризація клітинних мембран лежить в основі механізму розвитку не тільки периферичного гальмування (вплив блукаючого нерва на серце), але й багатьох видів центрального гальмування. Не позбавлено вірогідності твердження, що

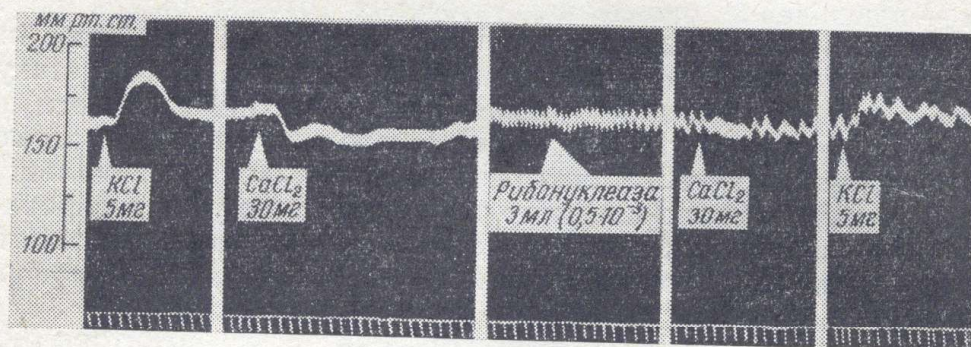


Рис. 2. Вплив рибонуклеази на характер рефлексних реакцій артеріального тиску при перфузії судин ізольованої петлі тонкого кишечника кішки розчинами хлористого калію і кальцію.

Зверху вниз: запис артеріального тиску, відмітка часу (5 сек).

на шляху аналізу взаємозв'язку розвитку гіперполяризації клітинних мембран і біосинтезу білка можна буде зрозуміти зв'язок гальмування і перебігу відновних процесів у клітині.

Гіперполяризаційні ефекти можуть визначати функціональний стан клітин різних структур організму. Відомо, що хеморецептори судин реагують на велику кількість хімічних подразників. Показано, що частина з них деполаризує, а частина гіперполяризує хеморецептори [4]. Припускають, що гіперполяризаційні зрушення в рецепторах виникають, зокрема, при дії іонів кальцію.

У спільному дослідженні з І. В. Щоголевою ми вивчали вплив різних речовин на рефлекс з хеморецепторів судин. У дослідах на кроликах і кішках ізолювали в судинному відношенні сино-каротидну ділянку, судини тонкого кишечника. До перфузованої рідини додавали різні речовини. У тварин реєстрували рефлексні зміни артеріального тиску і дихання при подразненні хеморецепторів до і після введення у перфузований струмінь рідини інгібіторів біосинтезу білка. Як видно з рис. 2, додавання KCl до перфузованої рідини викликає пресорну реакцію, а додавання CaCl_2 — депресорну.

Після впливу на рецептори рибонуклеазою ефект дії хлористого калію зберігається, а хлористого кальцію — зникає. Слід брати до уваги, що ця відмінність у зміні рефлексів на KCl і CaCl_2 виникає при певному діапазоні доз рибонуклеази, актиноміцину D, які додають до перфузійної рідини. Нагадаємо, що багато антибіотиків у певних концентраціях пригнічує рефлекс з рецепторів судин [2].

Отже, різні об'єкти (скелетний м'яз, міокард, рецептори судин), різні причини (денервація, введення інсуліну, подразнення блукаючого нерва тощо), а ефект той самий — порушення у різних ланках біосинтезу білка запобігає розвитку гіперполяризації клітин. Ми гадаємо, що це спряження функцій клітини і біосинтезу білка є важливим активним механізмом підтримання певного рівня поляризації мембрани, розвитку гальмування. Зв'язок між біосинтезом білка і гіперполяризацією

дозволить пояснити метаболічну основу гальмівного процесу, його вплив на перебіг процесів відновлення.

Надзвичайно важливо те, що ці ефекти розвиваються швидко — через 5—30 хв після введення інгібіторів. Це дозволяє твердити, що механізм описаних впливів пов'язаний не зі зміною «готових» білків, а з порушенням процесу їх синтезу; що в ході утворення білка виникають зрушення, які визначають формування функцій клітин; що процес біосинтезу білка спряжений з функціями клітини.

Існує ще один шлях зв'язку порушень біосинтезу білка і функцій клітини — пригнічення оновлення, утворення готових білків, на яких розгортається функція. Йдеться про те, що тривалим введенням інгібіторів, пригніченням процесу біосинтезу білка можна досягти стану недостатнього пластичного забезпечення функції клітин, викликати порушення їх діяльності. Так, Меерсон [5] показав, що після семиденного введення актиноміцину 2073 знижуються оптимальні і песимальні частоти подразнення нервово-м'язового апарата, гальмується вироблення нових рухово-харчових умовних рефлексів. Тривале введення інгібіторів біосинтезу білка перешкоджає розвитку компенсаторної гіперфункції міокарда.

У нашій лабораторії В. П. Замостян показав, що інгібітори біосинтезу білка викликають зниження скоротливої здатності скелетних м'язів білих щурів при їх тривалій роботі тільки після їх багатоденного введення. Різні білки характеризуються неоднаковим періодом розпаду і синтезу їх молекули. Це й ряд інших причин визначає те, що пригнічення пластичного забезпечення різних функцій може бути досягнуто в умовах неоднакового за тривалістю введення інгібітора.

Отже, крім відомих процесів пластичного забезпечення функцій, існує ще один важливий механізм взаємозв'язку генетичного апарата клітини, обміну білків і діяльності клітин — функції клітин, спряжені з процесом біосинтезу білка. Слід гадати, що гіперполяризаційні ефекти далеко не єдиний приклад спряження функції клітин з етапами процесу біосинтезу білка.

Вивчення функцій клітин, спряжених з біосинтезом білка, може, очевидно, наблизити нас до розуміння важливих механізмів складних біологічних процесів.

Інтенсивність процесу синтезу білка істотно змінюється в ході індивідуального розвитку тваринного організму. Тепер розгорнулася широка дискусія про суть механізмів старіння. Незважаючи на суперечливість існуючих уявлень, більшість дослідників згодні з тим, що в ході старіння розвивається затухання самооновлення білків. Це положення було висунуте і впевнено підтверджене працями Харківської школи онтофізіологів — О. В. Нагорним, В. М. Нікітіним, І. М. Буланкіним [6]. Якщо діяльність генетичного апарата, перебіг збірки білкових молекул спряжений з функціями клітини, то слід гадати, що затухання самооновлення білків може зумовлювати багато функціональних змін при старінні організму. У нашій лабораторії було показано, що у старих тварин менші дози інгібіторів біосинтезу білка викликають пригнічення розвитку гіперполяризації скелетном'язових і міокардіальних волокон. Так рибонуклеаза в дозі 50 $\text{мкг}/100 \text{ г}$ упереджує розвиток гіперполяризації м'язових волокон після введення інсуліну у старих щурів і не знижує гіперполяризаційних ефектів у дорослих.

Інакше кажучи, ми гадаємо, що зміна процесів біосинтезу білка при старінні може чітко змінити перебіг спряжених з ним функцій клітини. Ці зрушення впливають на такі фундаментальні властивості клітин як збудливість, проникність клітинних мембран тощо при старінні організму.

Раніше нами разом з співробітниками [1, 9, 11, 13] було показано, що ряд гальмівних ефектів (негативний хронотропний вплив блукаючого нерва на серце, гальмівні ретикуло-спинальні впливи) відтворюється у старих щурів при більшій силі електричної стимуляції. Беручи до уваги роль розвитку гіперполяризації у виникненні цих ефектів, можна припускати зв'язок цих вікових змін з процесом біосинтезу білка.

Процеси збірки білка, процеси синтезу білкової молекули з'явилися на самих ранніх етапах виникнення життя на Землі. Ми дуже мало знаємо про те, як відбулось формування функцій на цих ранніх етапах розвитку життя. Можна припускати, що спряження біосинтезу білка і функцій було одним з провідних механізмів удосконалення діяльності живого, його пристосування до середовища. На цій основі й удосконалювались взаємозв'язки обміну і функцій, що досягли на наступних етапах еволюції високого рівня. На шляху дальшого вивчення спряження процесів біосинтезу білка і функцій клітини можна буде розкрити істотні механізми найважливіших проявів життєдіяльності організму.

Література

1. Дупленко Ю. К.—В кн.: Механизмы старения, К., 1963, 184.
2. Кан Г. С.—Стрептомицин. Физиол. механизмы влияния на нервную систему, АМН СССР, 1964.
3. Костюк П. Г.—Микроэлектродная техника, К., Изд-во АН УССР, 1960.
4. Лебедева В. А.—Механизмы хеморецепции, М., «Наука», 1965.
5. Меерсон Р. З.—Пластич. обеспеч. функций организма, М., «Наука», 1967.
6. Нагорный А. В., Никитин В. Н., Буланкин И. Н.—Проблема старения и долголетия, М., «Медицина», 1963.
7. Самойлов А. Ф.—Изв. Росс. Акад. наук, 1917, 34, 2, 297.
8. Сорохтин Г. Н.—Реакции возбудимых систем на дефицит возбуждения, М., «Медицина», 1968.
9. Танин С. А.—В кн.: Регуляция функций в различные возрастные периоды, К., «Научная думка», 1965.
10. Фердман Д. А., Гиммельрейх Н. Г., Дядюша Г. П.—ДАН СССР, 1969, 188, 2, 477.
11. Фролькис В. В.—В кн.: Механизмы старения, К., 1963, 131.
12. Фролькис В. В.—В кн.: Приспособительные возможности стареющего организма, К., 1968, 8.
13. Фролькис В. В.—Основы геронтологии, М., «Медицина», 1969, 165.
14. Caldwell P.—J. Physiol., 1960, 152, 245.
15. Castillo J., Katz B.—J. Physiol., 1955, 128, 157.
16. Castillo J., Katz B.—Microphysiol. compar. elem. excit., Paris, 1957, 271.
17. Conway E.—J. Gen. Physiol., 1960, 43, 17.
18. Gaskell W.—Beitrage zur Physiologie, Leipzig, 1887, 114.
19. Hodgkin A., Keynes R.—J. Physiol., 1953, 119, 513.
20. Hodgkin A., Keynes R.—J. Physiol., 1955, 128, 61.
21. Jacob F., Monod J.—В кн.: Молекулярная биология, М., «Наука», 1964, 14.

NEW HYPOTHESIS ON CELL FUNCTION AND PROTEIN BIOSYNTHESIS RELATIONSHIP

V. V. Frolikis

Institute of Gerontology, Academy of Medical Sciences, USSR, Kiev

Summary

The problem of plastic supply of functions proceeds from the notion of "ready" protein as a structural base for different manifestations of cell activity. At the same time during the constant process of the protein biosynthesis, essential metabolic shifts, complicated ion migrations take place considerably providing the integrations of different cell organoids. On the basis of analysis of experimental data, an assumption is advanced on the existence of one more important mechanism of interrelation of plastic processes and activity of cells—cell functions conjugate with the process of the protein biosynthesis. Many shifts in the cell activity in ageing can be explained by the change conjugation of cell functions and protein biosynthesis.