

УДК 612.67.014

В. В. Фролькис

ОБ ОБРАЗОВАНИИ ГИПЕРПОЛЯРИЗУЮЩЕГО ФАКТОРА ПРИ АКТИВАЦИИ БИОСИНТЕЗА БЕЛКА В КЛЕТКАХ ПЕЧЕНИ

Циклом работ нашего коллектива было показано, что при активации биосинтеза белка в различных клетках (печень, сердце, скелетные мышцы) развивается гиперполяризация протоплазматической мембраны [3, 4]. Активация биосинтеза белка возникала при действии гормонов (половые стероиды, инсулин, гидрокортизон), регенерации, кровопотере и др. Ингибиторы биосинтеза белка предупреждали развитие гиперполяризации мембран клеток.

Возникло предположение, что развитие гиперполяризации связано с образованием при активации биосинтеза белка специального фактора. Работа посвящена проверке этого предположения.

Методика исследований

Опыты проведены на 68 крысах линии Вистар. Возраст крыс 8—10 мес. Осуществляли внутриклеточное определение величины мембранного потенциала (МП) клеток печени *in vivo*. Ткань печени гомогенизировали в растворе Рингера для теплокровных животных (1:1) в стеклянном гомогенизаторе и фильтровали через мелкопористый фильтр.

На поверхности печени закрепляли специальную камеру (диаметр 3 мм), через которую осуществляли проток апплицирующей жидкости. Кровопускание производили через хвостовую вену (2% от веса тела). Внутривенно вводили 3,5 мг/100 г гидрокортизона, 15 мкг/100 г актиномицина Д, 5 мг/100 г циклогексимида.

Результаты исследований и их обсуждение

Введение гидрокортизона и кровопотеря вызывают выраженную гиперполяризацию мембран клеток печени. После введения гидрокортизона мембранный потенциал увеличивается с $37,9 \pm 0,4$ до $45,8 \pm 1,3$ мВ ко второму часу. К шестому часу после кровопотери величина мембранного потенциала не изменяется, а к 24 ч достигает $51,8 \pm 1,2$ мВ.

Одновременно с увеличением МП активируется биосинтез белка. Об этом свидетельствует повышение относительной удельной радиоактивности РНК и белка, возрастание интенсивности обновления различных классов РНК [5, 6]. Гомогенат из печени интактных крыс не вызывает достоверных изменений величины МП клеток печени крыс реципиентов (см. таблицу). Вместе с тем гомогенат печени, взятый на пике гиперполяризации после введения гидрокортизона, вызывает увеличение МП в клетках печени реципиента на 8—10 мВ (см. таблицу). Максимальная величина роста МП отмечается к третьему часу. Следовательно, вызванный гидрокортизоном эффект гиперполяризации протоплазматических мембран может быть перенесен от одного животного к другому и, очевидно, связан с образованием какого-то гиперполяризующего фактора.

В следующей серии опытов было изучено влияние ингибиторов биосинтеза белка на образование гиперполяризующего фактора под влиянием гидрокортизона. С этой целью были использованы ингибиторы, блокирующие биосинтез белка в разных звеньях — актиномицин Д, блокирующий ДНК зависимый синтез РНК [1, 2] и циклогексимид, блокирующий рибосомальный синтез белка [7, 8]. Актиномицин Д и циклогексимид, блокируя биосинтез белка, препятствует образованию гиперполяризующего фак-

Об образовании гиперполяризующего фактора

тора. Как видно из таблицы, действие блокаторов биосинтеза белка не влияет на образование фактора.

Гиперполяризующий фактор образуется при кровопотере. Как видно из таблицы, кровопотеря вызывает гиперполяризацию мембран клеток печени.

Влияние гомогената печени, взятый с кровопотерей (2% от веса животного) на МП гепатоцитов печени — черные столбики — гомогената печени крыс, у которых кровопотеря сочеталась с двукратным введением циклогексимида (по 100 г).

Двукратное введение циклогексимида не влияет на гиперполяризующий эффект гомогената печени.

В специальной серии опытов было изучено влияние фактора на печень реципиента после этого на печень реципиента.

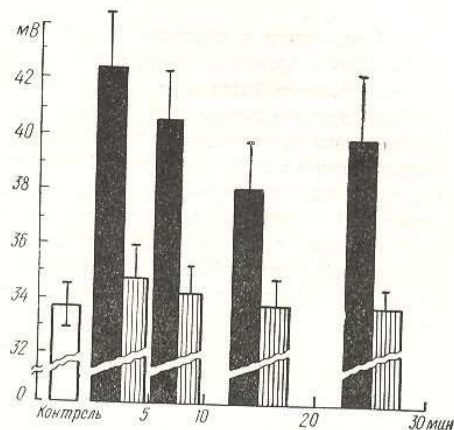
Влияние гомогената печени (данные из таблицы)

Условия опыта	Исходная величина МП, мВ
Действие гомогената печени после введения гидрокортизона	37,6±
Действие гомогената печени интактных животных	37,9±
Влияние актиномицина Д на гиперполяризационный эффект гомогената	37,6±
Влияние циклогексимида на гиперполяризационный эффект гомогената	36,9±
Влияние кипячения на гиперполяризационный эффект гомогената	36,8±

* $p < 0,05$

тора. Как видно из таблицы, гомогенат печени после введения гидрокортизона на фоне действия блокаторов биосинтеза белка не вызывает гиперполяризацию клеток печени реципиента.

Гиперполяризующий фактор образуется и при активации биосинтеза белка, вызванной кровопотерей. Как видно из рисунка, гомогенат печени, полученный через 24 ч после кровопотери, вызывает у крысы-реципиента выраженную гиперполяризацию.



Влияние гомогената печени, взятой от крысы с кровопотерей (2 % от веса животного) на МП гепатоцитов интактной печени — черные столбики. Заштрихованные столбики — влияние гомогената печени крыс, у которых кровопотеря сочеталась с двукратным введением циклогексимида (по 5,0 мг/100 г).

Двукратное введение циклогексимида по 5 мг/100 г после кровопотери блокирует образование гиперполяризующего фактора. Гомогенат печени этих животных не вызывает гиперполяризующего эффекта.

В специальной серии опытов актиномицин Д вводили животным-реципиентам, и после этого на печень апплицировали гомогенат ткани животных, которым был вве-

Влияние гомогената печени (донора) на величину мембранного потенциала гепатоцитов (реципиента)

Условия опыта	Исходная величина МП, мВ	15 мин	30 мин	60 мин	120 мин	180 мин
Действие гомогената после введения гидрокортизона	37,6±0,5	42,7±1,0*	44,2±1,3*	46,4±1,3*	48,6±0,7*	46,0±0,7*
Действие гомогената печени интактных животных	37,9±0,4	38,3±0,9	38,6±0,9	38,6±0,2	40,2±0,7	41,2±1,7
Влияние актиномицина Д на гиперполяризационный эффект гомогената	37,6±0,4	38,1±0,5	38,3±0,5	39,6±1,2	39,7±1,1	43,0±1,0*
Влияние циклогексимида на гиперполяризационный эффект гомогената	36,9±0,5	37,3±0,5	37,6±0,2	38,2±0,6	41,0±2,1	41,2±2,3
Влияние кипячения на гиперполяризационный эффект гомогената	36,8±0,3	37,6±0,1	37,5±0,2	37,6±0,2	37,8±0,5	38,0±0,6

* $p < 0,05$

ден гидрокортизон. Гомогенат вызывал гиперполяризующий ответ, величина мембранного потенциала увеличивалась на 8—10 мВ. Следовательно, появляющийся гиперполяризующий фактор оказывает свое действие, минуя систему биосинтеза белка.

Обработка гомогената печени 10 % трихлоруксусной кислотой не снимала гиперполяризующего эффекта, а 10 мин кипячение лишало гомогенат печени, полученный после введения гидрокортизона или кровопотери, гиперполяризующего действия (см. таблицу).

Итак, можно утверждать, что при активации биосинтеза белка, вызванной гидрокортизоном и кровопусканием, в печени появляется гиперполяризующий фактор. Угнетение биосинтеза белка в различных его звеньях (действие актиномицина Д, циклогексимида) предупреждает его образование, а его действие на мембрану клеток не опосредовано через синтез белка. Обращает на себя внимание то, что скрытый период развития гиперполяризации при действии гомогенатов меньше, чем при введении гидрокортизона или после кровопускания. Это связано с тем, что при введении гормона и потере крови необходимо время на активацию синтеза белка, на синтез гиперполяризующего фактора, а при действии гомогената оказывает влияние уже «готовый» гиперполяризующий фактор. Можно предполагать, хотя это и требует специальной проверки, что гиперполяризующий фактор является простым пептидом.

Вывод

При активации биосинтеза белка в клетках печени появляется фактор, гиперполяризующий поверхностную протоплазматическую мембрану этих клеток.

Литература

1. Ашмарин И. П., Ключарев А. А. Ингибиторы биосинтеза белка. Л.: Наука, 1975.— 208 с.
2. Навашин С. М., Сазыкин Ю. Ю., Фомин И. П. Антибиотики и микроорганизмы.— Антибиотики, 1977, № 9, с. 781—789.
3. Фролькис В. В. Регулирование, приспособление и старение.— Л.: Наука, 1970.— 432 с.
4. (Фролькис В. В.) Frolkis V. The effect of protein diosynthesis inhibitors upon the development of cellular membranes hyperpolarization.— *Experientia*, 1972, 28, p. 151—153.
5. Фролькис В. В., Мурадян Х. К., Тураева Н. М. Влияние гидрокортизона на мембранный потенциал и синтез фракций РНК клеток печени.— *ДАН СССР*, 1976, 227, № 3, с. 739—741.
6. Фролькис В. В., Богацкая Л. Н., Новикова С. Н. Изменение величины мембранного потенциала клеток печени после кровопотери.— *Физиол. журн.*, 1980, 26, № 2, с. 201—207.
7. Kechan W., Hardesty B. The mechanism of cycloheximid inhibition of protein synthesis in rabbit reticulocytes.— *Bioch. Biophys. Res. Commun.*, 1969, 36, p. 625—633.
8. Obrig T., Culp W., Kechan W., Hardesty B. Mechanism by which cycloheximid and related glutaramid in antibiotics inhibit protein synthesis on reticulocyte ribosomes.— *J. Biol. Chem.*, 1971, 246, p. 174—181.

Институт геронтологии
АН СССР, Киев

Поступила в редакцию
25.IV 1980 г.

РОЛЬ ПРЕСИНАПТИЧЕСКОГО ТОРМОЖЕНИЯ В РЕАКЦИИ ДВУХНЕЙРОННОЙ ДУГИ НА РИТМИЧЕСКУЮ СТИМУЛЯЦИЮ

Ритмическая стимуляция вызывает изменение величины моносинаптического синапса на повторную стимуляцию синаптических связей в доступного медиатора в синапсе, что стимулирует волокна афферентов (ДПА), которая синаптическое торможение, в состав двухнейронной дуги времени прямо не доказана. Висимости реакции МСР на ритмическую стимуляцию.

Задачей настоящей работы является изучение влияния ритмической стимуляции на ритмическую стимуляцию фармакологический анализ синапса и в то же время не оказывающего влияния на ритмическую стимуляцию пикротоксин и бикикуллин. С изводные бензодиаземина.

Опыты проведены на кошках производили ламинэктомия, препаровку передних корешков перерезали на уровне верхних шейных ганглиев. Животные были на искусственном дыхании. Главной мышцей подвергали электрической стимуляции импัลсов. С помощью электродов корешках в условиях ритмической стимуляции ритмической стимуляции синапса («Koch a. Light Labora»). Действие пикротоксина изучали на поверхности спинного мозга.

Результаты

Ритмическая стимуляция вызывает изменение степени которого зависела от ритмической стимуляции путем определения их среднего значения в процентах по отношению к исходному значению.

Пикротоксин (1 мг/кг) вызывает депрессию синапса, званых одиночными стимулами. В течение 20—30 мин он достигал максимума депрессии. В течение дуги на ритмическую стимуляцию наряду с ослаблением отмечено увеличение вариабельности МСР, возникающие при стимуляции.