

## КРАТКИЕ СООБЩЕНИЯ

УДК 612.816.3+612.817.015.348:612.67

А. В. Ясечко

### ВЛИЯНИЕ ДЕНЕРВАЦИИ НА МЕМБРАННЫЙ ПОТЕНЦИАЛ, СИНТЕЗ РНК И БЕЛКА В СКЕЛЕТНЫХ МЫШЕЧНЫХ ВОЛОКНАХ ЖИВОТНЫХ РАЗНОГО ВОЗРАСТА

Изучение постденервационных изменений в мышцах имеет важное значение для выяснения возрастных особенностей нервного контроля, трофической регуляции. Как известно, денервация вызывает снижение мембранного потенциала покоя (МП) и изменение скорости синтеза белка в миоцитах скелетных мышц [9—11]. Однако в большинстве работ основное внимание уделяется лишь отдаленным последствиям денервации. Работами В. В. Фролькиса и сотрудников [6, 7] установлено существование определенной связи между изменениями МП и биосинтеза белка. В связи с этим целью настоящей работы явилось сопоставление изменений величины МП скелетных мышечных волокон в ранние сроки после денервации с изменениями синтеза белка и РНК у взрослых и старых животных, а также определение влияния блокады биосинтеза РНК на развитие постденервационных изменений МП.

**Методика.** В опытах использованы белые беспородные крысы двух возрастных групп: 6—7 мес (взрослые) и 25—26 мес (старые). Крыс наркотизировали внутривенным введением 40—50 мг/кг этиминала натрия. МП скелетных мышечных волокон измеряли по общепринятой методике [3]. Через 15—20 мин после введения наркотического вещества измеряли исходный уровень МП, после чего перерезали *n. ishiadicus* в области верхней трети бедра и регистрировали изменения величины МП *m. gastrocnemius* (*GAST*) в условиях *in situ* через 15, 30, 60 и 120 мин после денервации. Для подавления синтеза РНК животным за 5 ч до начала опыта вводили актиномицин Д в дозе 1 мг/кг [4].

Меченые предшественники РНК (оротат  $^{14}\text{C}$ ) и белка (лейцин  $^3\text{H}$ ) вводили внутривенно в дозе 12 и 40 МБк/кг соответственно, через 40 мин после введения этиминала натрия или, в случае денервации, через 30 мин после перерезки седалищного нерва. Образцы тканей исследуемых мышц (*GAST*, *m. extensor digitorum longus* (*EDL*), *m. soleus* (*SOL*)) брали через 30 мин после введения метки, быстро взвешивали на торсионных весах, гомогенизировали в 2 мл холодной 10 % ТХУ и разделяли кислотонерастворимый и кислоторастворимый материалы фильтрованием через нитроцеллюлозные мембранные фильтры с размером пор 0,45 мкм (Millipore, США) согласно Кеннед [2]. Радиоактивность проб измеряли на радиоизмерительной системе Mark—III (США). Интенсивность захвата меченых предшественников определяли по величине УР пула (нмг/мг·мин), а об интенсивности синтеза макромолекул РНК и белка судили по величине относительной удельной радиоактивности (ОУР), которую определяли отношением удельных радиоактивностей кислотонерастворимого и кислоторастворимого материалов.

**Результаты.** Как видно из рисунка, гиперполяризация плазматической мембраны мышечных волокон *GAST* регистрируется через 30 мин после денервации, однако существуют четкие возрастные различия. Так, рост величины МП более выражен у взрослых животных и наступает у них раньше, чем у старых. Вместе с тем значения МП взрослых крыс начинают снижаться через 30 мин после перерезки седалищного нерва, тогда как у старых — через 1 ч. Эти результаты находятся в хорошем соответствии с данными Мартыненко и Тураевой [5].

кортикоид-рецепторного комплекса СССР, 1982, № 3, с. 35—42. Изменение состава нуклеотидных оснований ДНК печени крыс при 15—1311.

Современные представления о физиол. журн., 1982, 28, № 6. Изменение кортизона на уровень строк печени крыс. — Молеку-

кокортикоидов. — Успехи фи-

зиол. журн., 1983, 96,

статистические методы в ме-  
тология и эксперим. терапия,

ализация [ $^3\text{H}$ ]гидрокортизона  
15—1853.

d suppression of  $\alpha_1$ -fetoprotein  
20, N 23, p. 6665—6672.

d in rat liver polysomal poly-  
oids. — Nucl. Acids Res., 1982,

Wrange O. Interactions of  
one with proteins in rat liver

on RNA and protein biosyn-  
thetic rats. — Endocrinol. exp.

bind to nonhistone protein and  
p. 279—286.

binding of glucocorticoid recep-  
1979, p. 135—160.

expression by glucocorticoids hor-  
J. Biol. Chem., 1978, 253, N 6.  
isms of glucocorticoid receptor  
etc., 1979, p. 305—326.

D. Studies on the mechanism  
Steroid Horm. New York etc.,

cortisol dependent acute metabolic  
3, 9, N 5, p. 467—476.

re of RNAs synthesised in rat  
ndocrinol., 1979, 13, N 3.

glucocorticoid-receptor complex. —

of glucocorticoid receptor from  
308.

ver for dexamethasone and in  
2, 29, N 3, p. 349—356.

corticoid receptor activation and  
62.

ties of cortisol-receptors comp-  
ct on biosynthesis of nuclear

— In: Glucocorticoid hormone

translation in liver cells: frac-  
Cell Biol., 1980, 22, N 1, p. 46.

corticoid receptor-steroid comp-  
of binding data. — In: Gluco-

one from cytoplasmic hormone  
of biologically active doses of

74, N 2, p. 306—318.

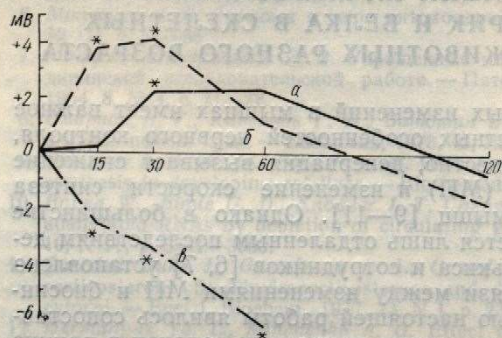
n uptake, retention, metabolism  
the rat liver. — Hoppe-Seyler's

coid receptor and induction of  
ap., 1982, 29, N 2, p. 209—218.

Поступила 22.09.83

После денервации в период с 30 по 60 мин почти во всех случаях отмечается тенденция к повышению проницаемости мембраны для меченых предшественников и увеличение синтеза белка и РНК. Об этом свидетельствует рост значений УР пула предшественников и ОУР белка и РНК (см. таблицу). Однако статистически значимы эти сдвиги только у старых животных для УР пула предшественников белка (во всех трех мышцах) и ОУР белка (*GAST*, *EDL*). Таким образом, денервация в исследованный нами срок оказывает более выраженное влияние на процессы синтеза белка у старых животных.

Как известно, актиномицин Д, блокируя матрицу ДНК, образует барьер на пути движения РНК-полимеразы и препятствует синтезу РНК



Влияние денервации на величину МП мышечных волокон *m. gastrocnemius* старых и взрослых крыс в норме и на фоне предварительного введения актиномицина Д. За 0 принята величина МП перед денервацией. По горизонтали — время после перерезки нерва; α — старые, β — взрослые (ак. Д); \* — различия с контролем достоверны ( $p < 0.05$ ).

[1]. Если существует связь между синтезом белка и гиперполяризацией, то блокаду биосинтетических процессов можно рассматривать как подход для ее исследования. Денервация, произведенная через 5 ч 30 мин после введения актиномицина Д, приводит у взрослых животных к деполаризации плазматической мембраны волокон *GAST*, причем выраженность этого явления нарастает с течением времени (см. рисунок).

Итак, в ранние сроки после денервации развивается гиперполяризация мышечных волокон, появляется тенденция к увеличению проницаемости мембраны мышечных волокон для меченых предшественников и активации биосинтеза РНК и белка. Важно, что это отмечается во всех исследованных мышцах: *GAST*, *EDL*, *SOL*. Блокада транскрипции актиномицином Д предотвращает развитие гиперполяризации после перерезки седалищного нерва. Более того, сам по себе актиномицин Д в использованной нами дозе не изменял величины МП, однако на фоне его действия денервация вызывает не гиперполяризацию, а достоверное снижение величины МП. Таким образом, можно полагать, что после денервации возникает сложный комплекс изменений, одни из которых (например, активация биосинтеза) способствуют гиперполяризации, другие (нарушения ионного транспорта, структуры мембраны) — снижению величины МП мышечных волокон. С возрастом изменяется соотношение между биосинтезом белка и МП. У старых животных денервация мень-

Влияние денервации (в % от контрольного уровня) на величины УР пула предшественников и ОУР белка и РНК в *GAST*, *EDL*, *SOL* в период с 30 по 60 мин после перерезки седалищного нерва

| Показатель    | GAST |     | EDL |     | SOL |     |
|---------------|------|-----|-----|-----|-----|-----|
|               | вз   | ст  | вз  | ст  | вз  | ст  |
| УР пула белка | 26   | 61* | 15  | 54* | 15  | 30* |
| ОУР белка     | 12   | 41* | —19 | 41* | 7   | 17  |
| УР пула РНК   | 7    | 113 | 30  | 13  | 16  | —8  |
| ОУР РНК       | 10   | 10  | 10  | 10  | 42  | 38  |

Примечания. вз — взрослые, ст — старые; \* — различия с контролем достоверны ( $p < 0.05$ )

ше влияет на развитие активность синтеза белка. За синтезируется гипотетически, взаимосвязи плазматической интенсивности биосинтеза определенного белка. разницу взаимосвязи между скоростью и интенсивностью у животных р

1. Ашмарин И. П., Ключарев В. И. — Физиол. журн., 1981, т. 27, № 6, с. 208 с.
2. Кеннед Д. Использование актиномицина Д для исследования биосинтеза белка. — В кн.: Методы исследования биосинтеза. М., 1978, с. 144.
3. Костюк П. Г. Микроэлектродные исследования двигательной системы при денервации. — В кн.: Физиология и патология двигательной системы при денервации. М., 1981, с. 144.
4. Лейтин В. Л., Подобедов В. И. — Физиол. журн., 1981, т. 27, № 6, с. 208 с.
5. Мартыненко О. А., Тульчинский В. И. — Физиол. журн., 1981, т. 27, № 6, с. 208 с.
6. Фролькис В. В. Новое в физиологии. — Физиол. журн., 1981, т. 27, № 6, с. 208 с.
7. Фролькис В. В. Регуляция биосинтеза белка. — Физиол. журн., 1981, т. 27, № 6, с. 208 с.
8. Фролькис В. В. Старые и новые данные о физиологии. — Физиол. журн., 1981, т. 27, № 6, с. 208 с.
9. Albuquerque E. X., Theslev M., and chronically denervated muscle. — J. Physiol. (Gr. Brit.), 1968, 73, 1-10.
10. Goldspink D. F. A comparison of the effects of denervation and denervation with intramuscular injection of actinomycin D. — J. Physiol. (Gr. Brit.), 1968, 73, 1-10.
11. Kimura M., Kimura G. In vivo and in vitro studies of rat diaphragm induced by denervation. — J. Physiol. (Gr. Brit.), 1968, 73, 1-10.

Ин-т геронтологии АМН СССР

В монографии обобщены данные о физиологии клауструма — одного из отделов головного мозга. В ней рассмотрены его макроскопическое и микроскопическое строение, функциональные связи с другими отделами мозга, сведения об электрической активности, физиологической деятельности. Обсуждаются новые представления о роли клауструма. Для научных работников.

почти во всех случаях сти мембраны для мемелка и РНК. Об этом венников и ОУР белка имы эти сдвиги только иков белка (во всех м образом, денервация аженное влияние на

атрицу ДНК, образует пятствует синтезу РНК

не денервации на величину мышечных волокон *m. gastro-* старых и взрослых крыс е и на фоне предварительно- введения актиномицина Д. ринята величина МП перед де- лей. По горизонтали — время пос- ережки нерва; а — старые, б — е, в — взрослые (ак. Д); \* — а с контролем достоверны ( $p < 0.05$ ).

а и гиперполяризацией, рассматривать как под- енная через 5 ч 30 мин ослых животных к де- GAST, причем выра- времени (см. рисунок). звивается гиперполяри- к увеличению прони- ченных предшественни- ко, что это отмечается О.Л. Блокада транскрип- иперполяризации после по себе актиномицин Д ы МП, однако на фоне ризацию, а достоверное полагать, что после де- й, одни из которых (на- перполяризации, другие мембраны) — снижению изменяется соотношение отных денервация мень-

на величины УР пула в период с 30 по 60 мин после

| ст  | SOL |     |
|-----|-----|-----|
|     | вз  | ст  |
| 54* | 15  | 30* |
| 41* | 7   | 17  |
| 13  | 16  | —8  |
| 10  | 42  | 38  |

онтролем достоверны ( $p < 0.05$ )

ол. журн., 1984, т. 30, № 6

ше влияет на развитие гиперполяризации и в большей степени — на активность синтеза белка. По данным Фролькиса [8], в ходе биосинтеза синтезируется гиперполяризующий фактор пептидной природы. Следовательно, взаимосвязь между процессами биосинтеза и уровнем поляризации плазматической мембраны определяется не общим изменением интенсивности биосинтетических процессов, а выраженностью синтеза определенного белка. Именно этим, по-видимому, можно объяснить разницу взаимосвязи между активацией биосинтеза и гиперполяризацией у животных разного возраста.

### Список литературы

1. Ашмарин И. П., Ключарев Л. А. Ингибиторы синтеза белка. — Л.: Медицина, 1975. — 208 с.
2. Кеннел Д. Использование фильтров для разделения радиоактивных РНК, ДНК и белка. — В кн.: Методы исследования нуклеиновых кислот. М.: Мир, 1970, с. 138—144.
3. Костюк П. Г. Микроэлектродная техника. — Киев: Наук. думка, 1960. — 126 с.
4. Лейтин В. Л., Подобед О. В., Лерман М. И. Образование полирибосом в цитоплазме животных клеток: кинетика процесса и характеристика цитоплазматических предшественников полирибосом. — Биохимия, 1972, 37, вып. 1, с. 65—80.
5. Мартыненко О. А., Тураева Н. М. Электрические свойства мышечных волокон и особенности их регуляции при старении. — В кн.: Геронтология и гериатрия. Опорно-двигательная система при старении. Киев, 1980, с. 124—128.
6. Фролькис В. В. Нове уявлення про взаємозв'язок функцій клітини та біосинтезу білка. — Фізіол. журн., 1970, 16, № 2, с. 221—227.
7. Фролькис В. В. Регулирование, приспособление и старение. — Л.: Наука, 1970. — 432 с.
8. Фролькис В. В. Старение. Нейрогуморальные механизмы. — Киев: Наук. думка, 1981. — 320 с.
9. Albuquerque E. X., Thesleff S. A comparative study of membrane properties of innervated and chronically denervated fast and slow skeletal muscles of the rat. — Acta physiol. scand., 1968, 73, N 4, p. 471—480.
10. Goldspink D. F. A comparative study of the effects of denervation, immobilization, and denervation with immobilization on the protein turnover of the rat soleus muscle. — J. Physiol. (Gr. Brit.), 1978, 280, p. P64—P65.
11. Kimura M., Kimura G. Increase of nascent protein synthesis in neuromuscular junction of rat diaphragm induced by denervation. — Nature. New Biol., 1973, 241, N 108, p. 114—115.

Ин-т геронтологии АМН СССР, Киев

Поступила 28.12.83

Ваколюк Н. И.

### МОРФОФИЗИОЛОГИЯ КЛАУСТРУМА

— Киев: Наук. думка, 1985.

В монографии обобщены результаты исследований по морфологии и физиологии клауструма — одного из наименее изученных подкорковых ядер мозга. Освещены его макроскопическое и микроскопическое строение, эмбриогенез и филогенез, морфофункциональные связи с другими образованиями мозга. Представлены подробные сведения об электрической активности клауструма, а также его участии в основных видах физиологической деятельности, в том числе — высшей нервной деятельности. Обсуждаются новые представления о функциональной структуре ядра.

Для научных работников, невропатологов и нейрохирургов.

Физиол. журн., 1984, т. 30, № 6

723