

**Соотношение хлорофилла светособирающих комплексов (ССК)
и хлорофилла реакционных центров (РЦ) фотосистемы I (ФС I)
и фотосистемы II (ФС II) в листьях растений ячменя
при воздействии хлорамфеникола (ХАФ)**

Вариант опыта	Время воздействия ХАФ, ч	Возраст листьев, сут	Хлорофилл ССК, мг/г сырой массы	Хлорофилл а РЦ	Хлорофилл ССК
				хлорофилл ССК	хлорофилл РЦ ФС I, ФС II
Контроль	—	5	0,147	1,034	0,96
ХАФ	24	5	0,143	0,888	1,12
Контроль	—	6	0,149	1,302	0,76
ХАФ	48	6	0,129	1,093	0,91
Контроль	—	7	0,268	0,817	1,22
ХАФ	72	7	0,132	1,090	0,91
Контроль	—	8	0,327	0,920	1,08
ХАФ	96	8	0,195	0,702	1,42
Контроль	—	9	0,299	0,903	1,10
ХАФ	120	9	0,160	0,831	1,20

белка в хлоропластах и концентрацией основных фотосинтетических пигментов, от которых зависит поглощение и преобразование световой энергии в процессе фотосинтеза.

Список литературы

1. Кочубей С. М. Организация пигментов фотосинтетических мембран как основа энергообеспечения фотосинтеза. Киев, 1986.
2. Гинс В. К., Пискунова Н. П., Хомутов Г. Б. и др. // Физиология растений. 1986. Т. 33. Вып. 5. С. 901.
3. Храмова Г. А., Низовская Н. В., Кренделева Т. Е. и др. // Физиология растений. 1988. Т. 35. Вып. 6. С. 1058.
4. Lowry O. H. and all // Journ. Biol. Chem. 1951. U. 193. P. 265.
5. Кахнович Л. В. Фотосинтетический аппарат и световой режим. Мн., 1980.
6. Рубин Б. А. Фотосинтез и продукционный процесс. М., 1989. С. 118.
7. Кахнович Л. В. Фотосинтетический аппарат и факторы его регуляции. Мн., 1983. С. 53.

УДК 576.31

А. Т. ПИКУЛЕВ, И. Н. ДАШКЕВИЧ,
Л. А. ЛАСТОВСКАЯ, В. В. СЕНЧУК

ВЛИЯНИЕ АРОМАТИЧЕСКИХ АМИНОВ НА СОСТОЯНИЕ БЕЛКОВ ЦИТОСКЕЛЕТА ПЕЧЕНИ И ГОЛОВНОГО МОЗГА КРЫС

Исследование молекулярных механизмов злокачественной трансформации клеток под действием химических канцерогенов является актуальной задачей. В решении этой проблемы важное значение имеет исследование первичных биохимических реакций клеток, экспонированных к химическим канцерогенам. В этом отношении особый интерес представляют компоненты цитоскелета, состояние которых весьма чувствительно к действию разнообразных химических и биологических факторов [1] и определяет функционирование различных клеточных процессов — деления, рецепции, секреции и др. [2]. Вместе с тем установлено, что такие компоненты цитоскелета, как актиновые микрофиламенты и тубулиновые мик-

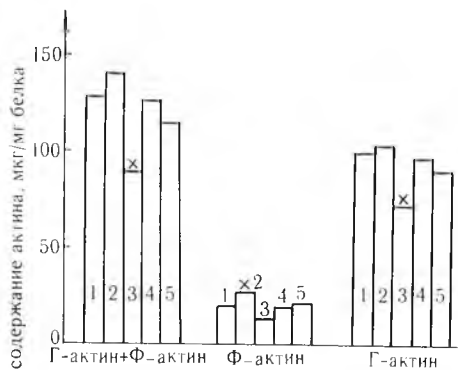
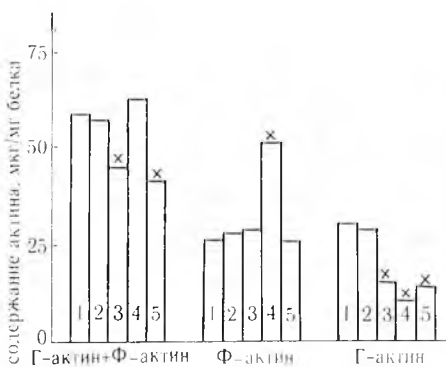


Рис. 1. Влияние введения ароматических аминов на содержание суммарного актина (Г-актин + Ф-актин), Г-актина и Ф-актина в цитоплазматической фракции головного мозга:

1 — контроль, 2 — бензидин (100 мг/кг); 3 — бензидин (400 мг/кг); 4 — диметилбензидин (100 мг/кг); 5 — диметилбензидин (400 мг/кг); * — достоверные изменения ($p \leq 0,05$).

Рис. 2. Влияние введения ароматических аминов на содержание суммарного актина (Г-актин + Ф-актин), Г-актина и Ф-актина в цитоплазматической фракции головного мозга. Обозначения те же, что и на рис. 1

ротрубочки, претерпевают радикальные изменения при злокачественной трансформации [3].

Таким образом, целью настоящей работы явилось изучение влияния ароматических аминов на состояние глобулярного актина (Г-актина) и фибриллярного актина (Ф-актина) цитоскелета печени и головного мозга крыс.

Материал и методика

Эксперименты проведены на беспородных белых крысах массой 130—180 г, содержащихся на стандартном рационе вивария. Группу экспериментальных животных составили крысы, которым внутривенно вводили однократно бензидин (БД) и 3,3-диметилбензидин (ДМБД) в виде суспензии в 0,9 % NaCl в дозах 400 мг/кг массы животного и 100 мг/кг массы животного, что составляет 1/4 и 1/10 ЛД₅₀ соответственно. Животных декапитировали через 24 ч после введения БД и ДМБД. Содержание Г-актина и Ф-актина измеряли в цитоплазматической фракции печени и головного мозга по степени ингибирования активности панкреатической ДНКазы [4, 5]. Функционально активные гепатоциты выделяли по методу [6]. Цитоскелетную фракцию гепатоцитов получали лизисом клеток в растворе, содержащем тритон X-100 [7]. Белковый состав цитоскелета гепатоцитов анализировали электрофорезом в полиакриламидном геле (ПААГ) в присутствии додецилсульфата натрия (ДСН) [8]. Белки в ПААГ окрашивали кумасси R-250 [9]. Концентрацию белка определяли колориметрическим методом [10]. Экспериментальные данные обрабатывали статистически.

Результаты и их обсуждение

На рис. 1 представлены данные о содержании Г-актина, Ф-актина и суммарного пула актина (Г-актин + Ф-актин) в цитоплазматической фракции гепатоцитов при введении аминобифенилов. Видно, что бензидин не вызывает изменения содержания фибриллярного актина гепатоцитов по сравнению с гепатоцитами контрольных животных. Вместе с тем при инъекции БД в дозе 400 мг/кг выявляется значительное снижение суммарного пула актина в цитоплазме гепатоцитов, что достигается за счет резкого уменьшения содержания мономерного актина. Другой ароматический амин также индуцирует существенные изменения агрегатного состояния актина гепатоцитов (см. рис. 1), которые в основном имеют те

**Отношение содержания Г-актина к содержанию Ф-актина
в цитоплазматических фракциях клеток печени
и головного мозга при введении аминоксифенилов**

Условия эксперимента	Г-актин/Ф-актин ($\bar{X} \pm Sx$)	
	головной мозг	печень
Контроль	$5,62 \pm 1,05$	$1,15 \pm 0,25$
Бензидин (100 мг/кг)	$4,29 \pm 0,88$	$1,05 \pm 0,21$
Бензидин (400 мг/кг)	$4,98 \pm 0,95$	$0,54 \pm 0,10$
Диметилбензидин (100 мг/кг)	$5,99 \pm 0,76$	$0,20 \pm 0,12$
Диметилбензидин (400 мг/кг)	$4,38 \pm 0,93$	$0,56 \pm 0,14$

же тенденции, что и при введении БД. Так, ДМБД в дозе 400 мг/кг вызывает резкое снижение суммарного содержания актина в цитоплазме гепатоцитов наряду со значительным уменьшением глобулярной формы актина. Анализ полученных данных позволяет выделить сходные черты в эффектах БД и ДМБД на агрегатное состояние актина гепатоцитов: оба аминоксифенила в основном не влияют на содержание фибриллярной формы актина, но значительно снижают содержание мономеров актина и общего пула актина в цитоплазматической фракции гепатоцитов, что наиболее четко выявляется при введении ароматических аминов в дозе 400 мг/кг.

Результаты исследования содержания разных форм актина головного мозга при введении аминоксифенилов (рис. 2) свидетельствуют о том, что только БД в дозе 400 мг/кг вызывает достоверное снижение содержания суммарного пула актина и Г-актина. Эти данные указывают на сравнительно низкую чувствительность системы актиновых филаментов головного мозга в ответ на введение аминоксифенилов, что, по-видимому, может быть обусловлено функционированием компонентов гематоэнцефалического барьера, которые предотвращают токсическое действие ксенобиотиков на клетки головного мозга [11]. Известно, что в клетках Г-актин и Ф-актин находятся в состоянии динамического равновесия, которое чрезвычайно чувствительно к воздействию разнообразных раздражителей [1, 12]. Численные значения отношения содержания Г-актина к содержанию Ф-актина, характеризующие это динамическое равновесие, представлены в таблице. Из этих данных следует, что БД и ДМБД не оказывают существенного влияния на динамическое равновесие форм актина головного мозга. В интактных гепатоцитах обе формы актина присутствуют почти в равном количестве. Введение аминоксифенилов резко изменяет это равновесное состояние: доля Ф-актина возрастает, а Г-актина уменьшается. При этом снижается общее содержание актина в цитоплазме гепатоцитов (см. рис. 1), что может быть обусловлено связыванием филаментов актина с мембранными структурами клетки [1, 2]. По-видимому, увеличение относительного содержания Ф-актина в цитоплазме гепатоцитов, подвергнутых воздействию ароматических аминов, может выступать в качестве одного из элементов защитной реакции клеток к повреждающему действию БД и ДМБД, поскольку повышение вязкости цитоплазмы вследствие увеличения содержания Ф-актина в клетках сопровождается развитием неспецифического адаптационного синдрома клеточной системы в ответ на различные химические и физические раздражители [12]. Защитный эффект полимерного актина может реализовываться посредством увеличения вязкости среды и, следовательно, снижения скорости обменных процессов; фиксации и стабилизации мембранных структур клетки; иммобилизации в трехмерной сети актиновых филаментов макромолекул клетки, наиболее чувствительных к воздействию ксенобиотиков.

С другой стороны, глубокие нарушения агрегатного состояния актина, происходящие в гепатоцитах при введении БД и ДМБД, могут быть следствием взаимодействия компонентов цитоскелета с чрезвычайно реакционноспособными радикалами, которые генерируются в процессе I фазы детоксикации чужеродных соединений [13].

Так или иначе, представлялось оправданным исследовать белковый состав основных компонентов цитоскелета и ассоциированных с ними белков гепатоцитов.

Электрофоретический анализ цитоскелета интактных гепатоцитов показывает (рис. 3), что в его составе доминируют компоненты микротрубочек и микрофиламентов — тубулин (молекулярная масса

55 кДа) и актин (молекулярная масса 43 кДа). Введение ароматических аминов приводит к резкому уменьшению относительного содержания тубулина в составе цитоскелета гепатоцитов (см. рис. 3). Эти данные свидетельствуют о деполимеризации микротрубочек гепатоцитов под действием БД и ДМБД, что может приводить к разборке митотического аппарата и, следовательно, к нарушению процессов деления гепатоцитов [1, 2]. Вместе с тем обнаруженное увеличение относительного содержания Ф-актина в цитоплазматической фракции гепатоцитов при введении БД и ДМБД сопровождается повышением относительного содержания белковых компонентов с молекулярными массами 10—20 кДа и 35—40 кДа (см. рис. 3), что, по-видимому, является адаптивным механизмом ассоциации полипептидов, чувствительных к действию ароматических аминов, с цитоскелетом гепатоцитов.

Таким образом, совокупность полученных данных позволяет заключить, что количественный и качественный состав белков цитоскелета гепатоцитов претерпевает глубокие изменения под действием канцерогенных ароматических аминов, которые могут выступать в качестве элемента адаптационной реакции гепатоцитов на чужеродные соединения. Эффекты ароматических аминов на состояние цитоскелета тканеспецифичны — цитоскелет гепатоцитов значительно более чувствителен к воздействию бензида и диметилбензида, чем компоненты цитоскелета головного мозга.

Список литературы

1. Pollard T. D. // Journ. Cell. Biol. 1981. P. 1565.
2. Korn E. D. // Proc. Nat. Acad. Sci. USA. 1978. V. 75. P. 588.
3. Ben-Ze'ev A. // Biochem. Biophys. Acta. 1985. V. 780. № 3. P. 197.
4. Blikstad I., Markey F., Carlsson L., Persson T., Lindberg U. // Cell. 1978. V. 15. № 5. P. 935.
5. Сенчук В. В., Пикулев А. Т., Дашкевич И. Н. // Докл. АН БССР. Т. 34. № 6. С. 564.
6. Jacob T. S., Bhargava P. M. // Exp. Cell. Res. 1962. V. 27. № 3. P. 453.
7. Brow S., Levinson V., Spudich J. A. // Journ. Supramol. Struct. 1976. V. 5. № 1. P. 119.
8. Laemmli U. K. // Nature. 1970. V. 227. № 5259. P. 680.
9. Остерман Л. А. Методы исследования белков и нуклеиновых кислот: Электрофорез и ультрацентрифугирование. М., 1981.
10. Peterson G. L. // Meth. Enzym. 1983. V. 91. P. 95.
11. Биохимическая фармакология / Под ред. П. В. Сергеева. М., 1982.
12. Браун А. Д., Моженко Т. П. Неспецифический адаптационный синдром клеточной активности. Л., 1987.
13. Лукьянова Л. Д., Попова О. А., Думченко А. М. // Гепатоцит: Функционально-метаболические свойства. М., 1985. С. 104.

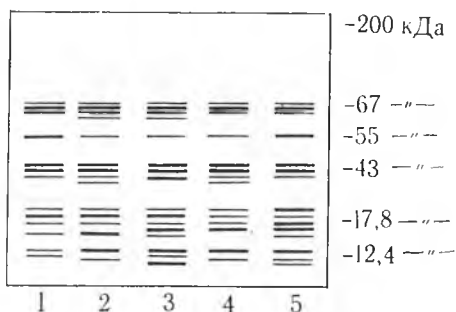


Рис. 3. Электрофоретический анализ в 15 %-ном ПААГ в присутствии ДСН белков цитоскелета гепатоцитов:

1 — контроль; 2 — бензидин (400 мг/кг); 3 — бензидин (100 мг/кг); 4 — диметилбензидин (400 мг/кг); 5 — диметилбензидин (100 мг/кг). Маркеры молекулярной массы: тяжелые цепи миозина скелетных мышц кролика (200 кДа); бычий сывороточный альбумин (67 кДа); тубулин мозга быка (55 кДа); актин скелетных мышц кролика (43 кДа); миоглобин (17,8 кДа); цитохром С (12,4 кДа)