

К ВОПРОСУ О ВЛИЯНИИ ФИЗИОЛОГИЧЕСКИ АКТИВНЫХ ВЕЩЕСТВ ГУМУСОВОЙ ПРИРОДЫ НА ВНУТРИКЛЕТОЧНЫЙ УРОВЕНЬ ц-АМФ

Л. М. Степченко, Т. Н. Пикалова, Т. И. Солнцева

В многочисленных экспериментах показано, что физиологически активные вещества гумусовой природы стимулируют скорость прорастания и рост растений [7], а также рост клеточной популяции фибробластов китайского хомячка и человека [3]. Это позволяет высказать предположение о том, что механизм действия физиологически активных веществ гумусовой природы принципиально сходен у всех эукариотов.

По этому вопросу существуют различные точки зрения [6], но мы исходим из предположения о том, что физиологически активные вещества гумусовой природы в клетке выполняют роль триггеров — эффекторов, которые могут осуществлять дерепрессию генов и таким образом выполняют регуляторную роль в клетке. Подтверждением этого предположения являются факты стимуляции гуматом натрия синтеза α -амилазы в эндосперме ячменя в отсутствие зародыша [7], а также увеличения общего количества меченых клеток популяции меристематических тканей [8].

Известно, что циклическому аденозинмонофосфату (ц-АМФ), обнаруженному первоначально в животных клетках, а затем и растительных, отводится ключевая роль в регуляторных процессах.

Считают [1], что ц-АМФ, выполняя функцию «вторичного мессенджера» в клетке, может осуществлять взаимосвязь и взаимодействие между веществами-регуляторами, к которым также относятся физиологически активные вещества гумусовой природы, и геномом клетки.

В связи с этим в настоящей работе была поставлена цель установить, оказывает ли влияние физиологически активный препарат гумата натрия на внутриклеточный уровень циклического аденозинмонофосфата в печени мышей.

Материалы и методы

В опытах использовались беспородные мыши, которые были разделены на три группы по 6 животных в каждой. Первая группа — контрольная, животным второй группы вводили один раз 0,3 мл стерильного 0,1% -ного раствора безбалластного гу-

мата натрия, полученного из низинного торфа Замглайского месторождения, в третьей — животным делали инъекции гумата натрия трижды через 24 часа. Через час после однократного введения и на третьи сутки при трехразовом введении гумата натрия животных забивали.

Тканевые экстракты печени, в которых определяли содержание ц-АМФ, получали по методу Gilman [10].

Внутриклеточный уровень ц-АМФ в тканевых экстрактах определяли с помощью стандартного набора «Cyclic AMP assay kit», производство фирмы «Amersham» (Англия). Метод основан на конкуренции между эндогенным (немеченным) и меченым по ^3H стандартным ц-АМФ за связывание со специфическим рецепторным белком, имеющим высокое сродство к циклическому нуклеотиду.

Белок определяли по методу Лоури [12].

Полученные экспериментальные данные обрабатывали статистически методом малой выборки, учитывая особенности математической обработки результатов биохимических экспериментов [2].

Результаты и обсуждение

Из экспериментальных данных, приведенных в табл. 1, следует, что уровень ц-АМФ в печени контрольных мышей в наших опытах совпадает с данными, полученными другими авторами [5].

Эта же таблица показывает, что через час после подкожного введения физиологически активного препарата гумата натрия уровень ц-АМФ в печени значительно повышается. Достоверным остается увеличение содержания ц-АМФ под влиянием гумата натрия и при пересчете на 1 мг белка.

В эксперименте при трехкратном введении животным гумата натрия на третьи сутки уровень ц-АМФ снижается по сравнению с контролем. При пересчете количества циклического нуклеотида как на 1 мг ткани, так и на 1 мг белка это снижение достоверно и укладывается в доверительный интервал, равный 99%.

Таким образом, введенный животным физиологически активный гумат натрия, большая часть которого, как отмечает [13], метаболизируется в печени, должен взаимодействовать с ферментативной аденилатциклазной системой, зафиксированной на мембранах, что и определяет изменение уровня ц-АМФ в клетках печени.

Таблица 1

Влияние физиологически активного препарата гумата натрия на уровень ц-АМФ в печени мышей ($M \pm m$; $n=6-8$ опытов)

Содержание ц-АМФ	Контроль	Через час после введения гумата натрия	На третьи сутки после трехкратного введения гумата натрия
1	2	3	4
пмоль/мг ткани	$0,91 \pm 0,08$	$1,79 \pm 0,17$	$0,59 \pm 0,05$
P	—	$< 0,001$	$< 0,01$
пмоль/мг белка	2160 ± 190	3890 ± 370	1280 ± 110
P	—	$< 0,01$	$< 0,01$

Сейчас считается, что циклические нуклеотиды могут влиять на активность ферментов, контролирующих фосфорилирование как гистонов [9], так и негистоновых ядерных белков, обладающих видовой и тканевой специфичностью и активно фосфорилируемых в периоды активации генов [11]. Показано, что причиной увеличения матричной активности хроматина может быть активация РНК-полимеразы вследствие ее фосфорилирования протеинкиназой из ядер зависимой от ц-АМФ (1). Этот процесс, несомненно, имеет значение для регуляции транскрипции генетической информации. Его значение для понимания природы действия физиологически активных веществ гумусовой природы неоднократно отмечалось в работах Л. А. Христовой.

В свете вышесказанного данные табл. 1 об изменении уровня ц-АМФ при введении гумата натрия указывают на его возможную роль в контроле механизмов генетической информации и участии в механизме обратной связи при ее реализации.

На основании полученных данных мы еще не можем сделать выводы о степени влияния изучаемого нами физиологически активного препарата на динамику содержания циклического аденозинмонофосфата. Однако, уже сам факт его воздействия на эту систему позволяет утверждать, что эти вещества могут регулировать функцию генов. В связи с обсуждаемой в последнее время ролью циклического аденозинмонофосфата в адаптационных реакциях [4] эта регуляция, возможно, зависит от факторов внешней среды, включая и стрессовые воздействия.

Таким образом, изменение внутриклеточного уровня ц-АМФ в печени мышей под действием физиологически активных веществ гумусовой природы подтверждает предположение Л. А. Христовой [7] об участии этих веществ в репарационных про-

цессах в клетке и повышении неспецифической сопротивляемости организмов при неблагоприятных условиях среды.

Известно, что уровень ц-АМФ в клетке поддерживается и определяется двумя высокоспецифичными ферментными системами: аденилатциклазной и фосфодиэстеразной. В зависимости от изменения уровня их активности количество ц-АМФ в клетке может либо повышаться, либо снижаться.

Поэтому изучение механизма действия физиологически активных веществ на эти ферментатические системы составит предмет наших дальнейших исследований.

ЛИТЕРАТУРА

1. Васильев В. Ю., Гуляев Н. И., Северин Е. Е. Циклический аденозинмонофосфат — биологическая роль и механизм действия. Журн. Всесоюз. хим. общ-ва им. Д. И. Менделеева, 1975, 20, 3, с. 306—231.
2. Гладilin К. Л. О некоторых особенностях математической обработки результатов биохимических экспериментов. Доклад АН СССР, 1972, т. 203, № 1, с. 226—229.
3. Горвая А. И., Грановский Н. М., Кравцова Л. В., Беньковская Т. Б. Влияние физиологически активных гуминовых веществ на радиорезистентность клеток млекопитающих и микроорганизмов. — В сб.: Гуминовые удобрения. Теория и практика их применения, т. V, Днепропетровск, 1975, с. 224—234.
4. Подопрigора Т. И. Циклический аденозинмонофосфат и его роль в клеточных механизмах адаптационных реакций. «Успехи современной биологии», АН СССР, т. 79, вып. 3, 1975, с. 361—370.
5. Солнцева Т. И., Белусова А. К., Будько А. П. Уровни ц-АМФ и активности ферментов его метаболизма в печени и гепатоме 22 мышей линии СЭНА. — В сб.: Циклические нуклеотиды, Красноярск, 1976, с. 126—127.
6. Станчев. Хумусные вещества катобио-регуляторы в растениев-дство, София, «Земиздат», 1977, с. 156.
7. Христова Л. А. К природе действия физиологически активных гумусовых веществ на растения в экспериментальных условиях. — В сб.: Гуминовые удобрения. Теория и практика их применения, т. VI, Днепропетровск, 1977, с. 3—15.
8. Christeva L. A. Starostin A. N., Dinkina R. L., Gorovaja A. I., Ulitina V. „To the action theokv of the physiologically active Stances“ Symposium on plant Stimulation. Adstracts. 25-30 October, 1966, Sofia, Bul- garia. с. 43-44.
9. Korner A. The hormonal control of protein synthesis. Biochem. J., 1969, 115, 5, 30-31.
10. Gilman A. G. P. N. A. S., 1970, 67(1), 305-312.
11. Johnson E. M., Allfuey V. G. Differential Effects of Cyclic Adeno- sine—3, 5—monophosphate on Phosphorylation of Rat liwer Nuclear Acidic Proteins. Arch. Biochem. and Biophys., 1972, 152, 2, 786-375.
12. Lowry O. H., Rocebrongh N. J., Favr L. A., Raudall R. J. Protein measurement with the Folin phenol reagent. J. Biol. Chem., 1951, v. 193, 265-375.
13. Visser S. A. Physiological action of humic acids on living cells. „The proceedings of the 4th international peat congress, Helsinki, 25-30 June“, Filand, 1972, 2-23.