



АКАДЕМИЯ НАУК СССР  
НАУЧНЫЙ СОВЕТ ПО ПРОБЛЕМАМ БИОХИМИИ  
ЖИВОТНЫХ И ЧЕЛОВЕКА  
ТАРТУСКИЙ УНИВЕРСИТЕТ

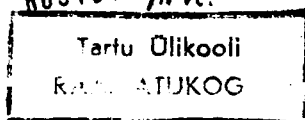
ВСЕСОЮЗНЫЙ СИМПОЗИУМ  
БИОХИМИЯ РЕЦЕПТОРНЫХ  
СИСТЕМ  
ТЕЗИСЫ



Таллинн 1990

Тезисы симпозиальных докладов и стендовых сообщения  
Всесоюзного симпозиума "Биохимия рецепторных систем"  
с 29 октября по 1 ноября 1990 г. в Таллинне.

KUSTUTA *Arh.*



10872

**ЭКСТРАРЕНАЛЬНЫЕ МЕХАНИЗМЫ НАРУШЕНИЯ ФУНКЦИИ РЕЦЕПТОРОВ  
АЛЬДОСТЕРОНА КЛЕТОК КАНАЛЬЦЕВ ПОЧЕК КРЫС ПРИ РЕФЛЕКТОРНОЙ  
ДИСТРОФИИ ОРГАНА**

Ажипа Я.И., Акимов Ю.А., Грищенко А.И., Егорова Л.К.,  
Родионов А.А.

Институт высшей нервной деятельности и нейрофизиологии  
АН СССР, Москва

Перерезка седалищного нерва и химическое раздражение его проксимальной культы у всех лабораторных животных всегда приводит к рефлекторной дистрофии почек, нарушению экскреции воды и электролитов органом и ослаблению его реакции на альдостерон, учитываемой по показателю реабсорбции натрия клетками канальцев почек (Ажипа, Филядина, 1962, 1980).

Резкое ослабление чувствительности почек крыс к альдостерону было обусловлено в значительной степени снижением уровня накопления гормона минералокортикоидными рецепторами цитозоля, ядер и хроматина клеток органа. Результаты электрофоретических исследований белкового спектра цитозоля и хроматина, а также другие физико-химические данные позволяют считать, что нарушение специфического связывания альдостерона почками при их рефлекторной дистрофии может явиться следствием уменьшения количества рецепторных белков в цитоплазме и ядрах клеток канальцев почек, конформационных изменений этих белков или же нарушения их молекулярного окружения. Указанное изменение чувствительности почек к альдостерону связано, по-видимому, и с обнаруженными при дистрофии почек изменениями других молекулярных ансамблей и субклеточных структур, участвующих во внутриклеточном переносе альдостеронового сигнала.

В других опытах одновременно с повреждением седалищного нерва проводили денервацию почки или ежедневное введение крысам пропранолола, которые прерывали поступление патологических трофических стимулов из проксимальной культы седалищного нерва к органу нервнопроводниковым путем или же через систему гипоталамус-гипофиз-периферические эндокринные железы. На 14-е сутки после денервации органа степень ослабления накопления альдостерона цитоплазмой клеток канальцев почек снижалась. Под влиянием пропранолола оно

полностью предотвращалось.

Определение содержания в почках во всех упомянутых опытах ЦАМФ выявило статистически значимые изменения количества этого вторичного посредника передачи на почку катехоламиновых стимулов и стимулов пептидных гормонов. Это позволило предполагать участие аденилатциклазной системы в механизмах нарушения функции рецепторов альдостерона почек при повреждении седалищного нерва и в механизмах нормализации этой функции при хирургической и фармакологической децентрализации органа, переживающего рефлекторную дистрофию.

#### ВЗАИМОДЕЙСТВИЕ СТАФИЛОКОККОВОГО ЭНТЕРОТОКСИНА А С МЕМБРАННЫМИ СИСТЕМАМИ ЛИМФОБЛАСТОИДНЫХ КЛЕТОК ЧЕЛОВЕКА

Алахов В.Ю., Дувакин И.А., Клинский Е.Ю., Москалева Е.Ю.

Тарасов В.И., Северин Е.С.

Научный центр молекулярной диагностики МЗ СССР, Москва

Энтеротоксин А St. aureus (SEA) является одним из наиболее высокоэффективных митогенов по отношению к лимфоидным клеткам. Его действие на мембрану нормальных лимфоцитов периферической крови человека (ЛПК) исследовано с помощью измерения поляризации флуоресценции гидрофобных нелипидных зондов - дифенилгексатриена (ДФГТ) и перилена. Показано, что при митогенном действии SEA на ЛПК происходит изменение липидного микроокружения указанных зондов, приводящее к повышению жесткости плазматической мембраны клеток. Кинетический анализ этих изменений указывает на наличие корреляции между фазовым состоянием мембраны и взаимодействием SEA с его рецептором.

Изучено влияние SEA на функционирование систем вторичных посредников, определяющих передачу митогенного сигнала токсина на уровень внутриклеточного метаболизма. Установлено, что при действии SEA на исследуемые клетки происходит активация аденилатциклазной системы и увеличение уровня внутриклеточного  $Ca^{2+}$ , контролирующего функционирование мембранных систем клетки. Полученные данные указывают на то, что наблюдаемое нами увеличение жесткости мембраны ЛПК при действии на них SEA обусловлено изменением активности систем вторичных посредников, и в частности, cAMP и  $Ca^{2+}$ .

## **АКТИВАЦИЯ ФОСФОЛИПАЗ А И С ПРИ ВЗАИМОДЕЙСТВИИ ТИРЕОИДНЫХ ГОРМОНОВ С РЕЦЕПТОРАМИ ПЛАЗМАТИЧЕСКИХ МЕМБРАН ГЕПАТОЦИТА**

**Бабенко Н.А.**

Харьковский государственный университет

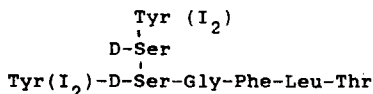
В последнее время установлено, что активация фосфолипаз различных типов под действием гормональных факторов сопровождается интенсивной деградацией мембранных фосфолипидов, образованием вторичных посредников различной природы и, в конечном итоге, формированием физиологического ответа клетки. Наименее изученными в этом плане являются метаболические последствия взаимодействия тиреоидных гормонов с рецепторами плазматических мембран клеток. Настоящими исследованиями установлено, что инкубация плазматических мембран в среде, содержащей физиологические концентрации тироксина, сопровождается быстрым кратковременным всплеском активности фосфолипаз и одновременным снижением интенсивности ресинтеза фосфолипидов при участии специфических ацилтрансфераз. Результатом данного процесса является накопление в мембранах гепатоцита полиненасыщенных жирных кислот и лизофосфолипидов на 400%, фосфорилхолина и диацилглицеринов – на 80% по сравнению с контрольными значениями. Следует отметить, что изменение концентрации продуктов деградации мембранных фосфолипидов отмечается на 30 сек инкубации и длится несколько минут. Наблюдаемые изменения метаболизма мембранных фосфолипидов под действием тироксина сопровождаются повышением концентрации ионов кальция в цитозоле клеток и многими другими процессами. Установлено, что накопление в клеточных мембранах уровня арахидоновой кислоты является причиной резкой активации сфингомиелиназы плазматических мембран и накопления продуктов превращения сфингомиелина, являющихся физиологическими регуляторами активности протеинкиназы С.

## СИНТЕЗ И ИЗУЧЕНИЕ ВЗАИМОДЕЙСТВИЯ АНАЛОГА DSLET С ОПИОИДНЫМИ РЕЦЕПТОРАМИ

Балдин М.И., Ярыгин К.Н., Беспалова Ж.Д., Сепетов Н.Ф.,  
Анкудинова О.Н., Якушева М.П.

Всесоюзный кардиологический научный центр АМН СССР, Москва

Классическими методами осуществлен синтез селективного агониста опиоидных дельта-рецепторов DSLET (I) и его аналога (II), содержащего в положении 1 дийодтирозин вместо тирозина, что делает возможным дальнейшее введение тритиевой метки:



Проведено сравнительное изучение способности I и II взаимодействовать с опиоидными рецепторами. Продемонстрированы существенные различия в способности I и II ингибировать связывание [<sup>3</sup>H]DADLE с опиоидными дельта-рецепторами и небольшие различия в их способности ингибировать связывание [<sup>3</sup>H]DAGO с опиоидными мю-рецепторами мозга крыс. На моделях изолированных органов показано, что I и II способны угнетать вызванные электростимуляцией сокращения подвздошной кишки морских свинок (ПКМС, преимущественно мю-рецепторы) и семявыносящего протока мышей (ПКМС, преимущественно дельта-рецепторы). В обоих тестах активность II, была несколько ниже активности I, причем на модели СПМ эти различия были более выраженными, чем на модели ПКМС.

## СТАБИЛЬНОСТЬ ОПИОИДНЫХ РЕЦЕПТОРОВ В РАСТВОРАХ

Белоконева О.С.

Московский государственный университет

Радиолигандным методом изучен процесс инактивации мю- и дельта-опиоидных рецепторов на препарате мембран головного мозга крыс в растворе при 37°C. При инактивации происходит экспоненциальное уменьшение концентрации центров связывания. Показано, что в изучаемом интервале времени (6 часов) потеря активности не связана с действием протеолитических ферментов, модификацией -SH, -COOH функциональных групп рецептора, сорбцией и агрегацией мембранного препарата: изменением pH среды в процессе инкубации. Добавление регуляторных ионов

(Ca, Na, K, Zn, Mg, Mn) не влияет на скорость инактивации рецепторов.

Калиевая соль фенозана, являющаяся водорастворимым ингибитором перекисного окисления липидов, в концентрации выше  $10^{-6}$  М уменьшает стабильность мю-опиоидных рецепторов: через 2 часа связывание не наблюдается. Жирорастворимые антиоксиданты (альфа-токоферол, ионол) в концентрации  $10^{-4}$  -  $10^{-5}$  М не влияют на стабильность рецепторов. Добавление линолевой кислоты (18:2) в концентрации выше  $10^{-6}$  М приводит к практически полной стабилизации всех видов опиоидных рецепторов в течение 6 часов. Пальмитиновая кислота (16:0) в тех же концентрациях не меняет  $k_{ин}$ . BSA (10 мг/мл) стабилизирует связывание лигандов с мю-рецепторами, не влияя на стабильность дельта-рецепторов. Ингибитор фосфолипазы  $A_2$  бромфенацилбромид не влияет на инактивацию мю- и дельта-опиоидных рецепторов. Неомицин, ингибитор фосфолипазы C, в концентрации  $10^{-4}$  М уменьшает  $k_{ин}$  дельта-рецепторов в 8-10 раз.

Полученные данные позволяют предположить, что инактивация опиоидных рецепторов связана с расщеплением и окислением фосфолипидов белково-липидного рецепторного комплекса и определяется свойствами липидного окружения, различного для рецепторов разных видов. Изменение свойств липидной матрицы к потере связывающей активности белковых молекул рецепторов.

#### **ИММУНОМОРФОЛОГИЧЕСКОЕ ИССЛЕДОВАНИЕ РАЗВИТИЯ ГЛУТАМАТРЕЦЕПТИВНЫХ КЛЕТОК В КУЛЬТУРЕ ТКАНИ КОРЫ ГОЛОВНОГО МОЗГА КРЫС С ПОМОЩЬЮ МОНОКЛОНАЛЬНЫХ АНТИТЕЛ**

Бобринев Ю.В., Балабанов Ю.В., Дамбинова С.А.

Институт экспериментальной медицины АМН СССР, Ленинград

Многочисленные исследования последних лет позволяют считать, что функциональное созревание подкорковых ядер и коры больших полушарий в течение пренатального периода онтогенеза представляет собой процесс самодифференцировки и не зависит от поступления импульсации от периферических звеньев анализаторов, созревающих в постнатальном периоде развития. Поэтому понятно, что одним из подходов к изучению закономерностей созревания нейронов и механизмов формирования специфических связей могут быть исследования на культуре

ткани.

В работе представлены результаты изучения локализации глутаматных рецепторов в дифференцирующихся органотипических культурах коры головного мозга крыс. Был использован иммуно-электронномикроскопический метод с применением моноклональных антител к глутаматсвязывающим мембранным белкам головного мозга, меченных частицами коллоидного золота. Обнаружено, что антитела способны избирательно выявлять отдельные нейроны; глутаматные рецепторы располагаются преимущественно в виде кластеров на их плазматических мембранах и аксонах. Показано, что зоной сборки глутаматных рецепторов является пластинчатый комплекс; полностью или частично собранные рецепторы транспортируются к цитолемме в везикулах. Отмечено скопление ростовых везикул, транспортирующих глутаматные рецепторы, в конусах роста аксонов.

Полученные данные позволяют считать, что в пределах изолированных фрагментов нервной ткани в условиях клеточных культур может осуществляться специфическая дифференцировка глутаматрецептивных нейронов, а кластеризация рецепторов предшествует формированию глутаматэргических сипансов. Можно предполагать, что формирование кластеров из рецепторов на плазматических мембранах индуцирует синаптогенез, определяя созревание пресинаптического компонента.

#### **СТАФИЛОКОККОВЫЙ ЭНТЕРОТОКСИН А ИНДУЦИРУЕТ ТРАНСЛОКАЦИЮ ПРОТЕИНКИНАЗЫ С В ЛИМФОИДНЫХ КЛЕТКАХ ЧЕЛОВЕКА**

Болотова Е.В., Москвитина Е.Л., Дувакин И.А.

Научный центр молекулярной диагностики МЗ СССР, Москва

$Ca^{2+}$ -фосфолипид-зависимая протеинкиназа С (ПК С) участвует в регуляции широкого спектра физиологических ответов клетки. Известно, что при воздействии внеклеточного эффектора происходит рецептор-опосредуемая стимуляция фосфоинозитидного обмена в клетке, что приводит к изменению локализации фермента или его физиологической активации. Кроме того, существует ряд факторов, которые являются мощными активаторами протеинкиназы С, в частности, фторболовые эфиры (ФЭ). Полагают, что именно ПК С является клеточным рецептором ФЭ. В поисках физиологической мишени действия стафилококко-



вого энтеротоксина А, мы исследовали изменение локализации ПК С под действием его токсических концентраций на лимфоидных линиях клеток человека. Было показано, что инкубация В-лимфоидной линии клеток "34" с токсином при концентрациях  $10^{-7}$ М и  $10^{-9}$ М, приводила к увеличению мембранносвязанной активности в 9 и 12 раз соответственно. Аналогичное повышение активности фермента наблюдается при обработке фЭ. В цитозоле же при низкой концентрации токсина ( $10^{-9}$ М) наблюдался рост активности фермента до 160%, который с увеличением концентрации до  $10^{-7}$  снижался до 80% по отношению к исходному уровню протеинкиназной активности. Длительная инкубация клеток с энтеротоксином А (до 30 мин) приводит к некоторому снижению уровня активности ПК С в мембране, как и в случае инкубации с фЭ. Аналогичные результаты были получены для Т-лимфоидных линий клеток Jurkat и Namalva. Таким образом, в результате митогенного действия токсина происходит физиологическая активация ПК С - транслокация из цитозоля на мембрану, вызывая ряд биохимических и функциональных изменений в клетке.

**ВЛИЯНИЕ ВОЗРАСТНОЙ ПЕРЕСТРОЙКИ МЕМБРАННОЙ СТРУКТУРЫ  
КАРДИОМИОЦИТОВ НА МОДИФИКАЦИЮ ЧУВСТВИТЕЛЬНОСТИ  
БЕТА-АДРЕНОРЕЦЕПТОРОВ И АКТИВАЦИЮ АДЕНИЛАТЦИКЛАЗЫ**

Буланова К.Я.

Институт радиобиологии АН БССР, Минск

Мембраны кардиомиоцитов животных разного возраста имеют полностью идентичные белковые спектры (Narayanan, 1981). Тем не менее обнаружено, что стимуляция бета-адренорецепторов катехоламинами приводит к различным по степени выраженности биологическим эффектам. Так, синтез цАМФ в мембранных препаратах молодых и старых животных был более интенсивным, чем у зрелых. Одной из причин этого явления может быть изменение числа мест связывания при сохранении сходной аффинности рецепторов, сопряженных с аденилатциклазой. Эти изменения нивелировались гуанозинтрифосфатами.

Методом ЭПР спектроскопии установлено, что у животных исследованных возрастных групп происходят изменения в конформационной подвижности мембранных белков. Различия

отмечались также в характере структурных перестроек, инициированных специфическими (агонистами) и неспецифическими (температурной) факторами. Использование липидчувствительных зондов позволило обнаружить возрастное повышение вязкости в гидрофобной зоне сарколеммы. Оно обусловлено ростом коэффициента насыщенности для жирнокислотных остатков. Содержание общих липидов, фосфолипидов и большинства их фракций, а также холестерина при старении не изменялось. Возрастные колебания концентраций лизофосфатидилхолина коррелировали с модификацией функциональных свойств аденилатциклазной системы (АЦС) и чувствительностью бета-адренорецепторов к стимуляции катехоламинами. При этом изменялась доля участия  $N_S$  и  $N_1$  белков в проведении рецепто-опосредованных влияний на активность аденилатциклазы.

Полученные данные позволяют предположить, что а АЦС наиболее липидчувствительным компонентом являются N-белки. Регуляторные влияния мембранной структуры проявляются как на уровне рецепторного связывания, так и на процессах сопряжения с каталитическим компонентом. Липидная фаза мембран, вероятнее всего, регулирует не скорость латеральных перемещений компонентов АЦС при стимуляции бета-адренорецепторов, а степень погруженности, влияя таким образом на поперечные по отношению к поверхности мембран флуктуации белков.

#### **МЕХАНИЗМ ВЗАИМОДЕЙСТВИЯ ЛИГАНДОВ ДОФАМИНОВЫХ РЕЦЕПТОРОВ С МЕДЬ-СОДЕРЖАЩИМ БЕЛКОМ МОЗГА - НЕЙРОКУПРЕИНОМ**

Бунятян Г.Г., Меликян А.М., Налбандян Р.М.

Институт биохимии АН АрмССР, Ереван

Нейрокупреин, растворимый, крайне кислый, медь-содержащий, 10 КД, белок обнаруживается как в мозгу, так и в хромаффинных гранулах надпочечников. Преимущественная локализация его в мозгу - это образования, богатые дофамином (черная субстанция, бледное пятно, гипоталамус). Апонеирокупреин, лишенная меди форма белка, ингибирует активность дофамин-бета-монооксигеназы путем хелатирования меди фермента, что указывает на возможную его роль в регуляции как уровня дофамина, так и распределения меди в нервной ткани.

В настоящем исследовании, методом аффинной хроматогра-

фии на сульпиридсефарозе, а также методом радиолигандного анализа установлена способность нейрокупреина связываться с лигандами дофаминовых рецепторов. Связывание апонейрокупреина с [<sup>3</sup>H]дофамином в среднем, более чем на 50% ингибируется в присутствии антагониста дофаминовых рецепторов, сульпирида и агониста, апоморфина. При использовании холонейрокупреина в тех же условиях специфического связывания указанных лигандов с белком не наблюдается. Высокая активность апонейрокупреина, по сравнению с холонейрокупреином, может быть обусловлено как различием на конформации апо- и холоформ белка, так и наличием единого центра связывания для меди и лигандов дофаминовых рецепторов на молекуле нейрокупреина. В опытах с замещением связанного с белком дофамина, насыщающими концентрациями агонистов (АДТН, бромэргокриптина, 3-гидрокситирамина и апоморфина) наибольшее сродство к нейрокупреину проявлял АДТН. Анализ кривых Скетчарда и Хилла, полученных с помощью компьютерной программы Мак Ферсона, выявил один участок взаимодействия апонейрокупреина с [<sup>3</sup>H]дофамином в присутствии апоморфина.  $V_{max}$  (16,5 пмоль/мг белка) и  $K_d$  (3,3 нМ) указывают на низкое сродство белка к использованным лигандам.

В докладе обсуждается возможная функция нейрокупреина в качестве белка, связывающего дофамин и принимающего участие в возникновении патологий, связанных с нарушением обмена дофамина и меди (паркинсонизма и шизофрении).

## **КИНЕТИЧЕСКИЕ ПРИНЦИПЫ ФУНКЦИОНИРОВАНИЯ РЕЦЕПТОРНО-ФЕРМЕНТНЫХ СИСТЕМ**

Варфоломеев С.Д., Зайцев С.В.

Московский государственный университет

Проанализированы основные кинетические закономерности, характеризующие поведение рецепторно-ферментных систем, определяющих молекулярные механизмы передачи и переработки информации на уровне клеточного ответа. Обсуждаются свойства рецепторов как молекулярных детекторов, обеспечивающих "узнавание" химического сигнала, проведено сравнение эффективностей фермент-субстратного и лиганд-рецепторного взаимодействия. Рассмотрена проблема гетерогенности популяции

рецепторов и современные кинетические методы дискриминации субпопуляции рецепторов. Анализируются основные механизмы и эффективности усиления химического сигнала в сопряженном ферментативном процессе. Обсуждаются проблемы ультрачувствительности рецепторно-ферментных систем. Анализ показывает, что кинетическими элементами пороговых явлений при клеточном ответе являются каскадные процессы с циклической модификацией активности ферментов и разнонаправленным (активирующим и/или ингибирующим) действием эффектора на модифицирующие ферменты, последовательно-параллельные биохимические реакции, автокаталитические процессы. Рассмотрены кинетические закономерности десенситизации рецепторно-ферментных систем.

**Н-2К РЕСТРИКТИРОВАННЫЙ ФАКТОР, СЕКРЕТИРУЕМЫЙ МАКРОФАГАМИ ПРИ  
СОВМЕСТНОМ КУЛЬТИВИРОВАНИИ С СИНГЕННЫМИ ТИМОЦИТАМИ, ВЫЗЫВАЕТ  
ФУНКЦИОНАЛЬНУЮ ДИФФЕРЕНЦИРОВКУ ТИМОЦИТОВ**

Галактионов В.Г., Семенкова Л.Н., Лудич Е.И.

Институт иммунологии Минмедпрома, Любучаны

Из супернатанта совместной культуры сингенных тимоцитов и макрофагов с помощью аффинной хроматографии с использованием моноклональных антител выделен Н-2К рестриктированный фактор с молекулярным весом около 60 кД. Инкубация интактных тимоцитов с этим фактором приводит к их функциональному созреванию до зрелых эффекторов РТПХ и СКЛ. Инкубация с фактором резко увеличивает ФГА-зависимую бласттрансформацию незрелых тимоцитов в отсутствие экзогенного интерлейкина-I и стимулирует продукцию тимоцитами интерлейкина-2.

Получены экспериментальные доказательства, что фактор связывается с теми же рецепторами на поверхности тимоцитов, как и интактные Н-2К антигены. Константа связывания фактора с мембранными рецепторами тимоцитов не превышает  $10^{-5} \text{M}^{-1}$ . Установлено, что Н-2К рестриктированный фактор является продуктом локуса Н-2К и секретируется либо в результате ферментативного протеолиза мембранных Н-2К антигенов, либо в результате альтернативной экспрессии в виде растворимых фрагментов Н-2К антигенов.

## ВОЗРАСТНАЯ РЕОРГАНИЗАЦИЯ М-ХОЛИНОРЕЦЕПТОРОВ САРКОЛЕМНЫХ КАРДИОМИОЦИТОВ

Герасимович Н.В., Милютин А.А.

Институт радиобиологии АН БССР, Минск

Экспериментальными и клиническими исследованиями установлено, что при старении уменьшается ответная реакция миокарда на стимуляцию парасимпатических нервных окончаний, в то же время чувствительность к гуморальным факторам увеличивается (Фролькис, 1981; Lakatta, 1980). Учитывая, что первичным звеном внутриклеточной реализации нейротрансмиттерных и ряда гуморальных воздействий являются специфические рецепторы поверхностной мембраны кардиомиоцитов, в настоящей работе с помощью радиолигандного метода проведен сравнительный анализ состояния М-холинорецепторов левого желудочка сердца зрелых (12 мес) и старых (24 мес) крыс.

Оценка специфического связывания меченого антагониста [ $^3\text{H}$ ]хинуклидинилбензилата ([ $^3\text{H}$ ]ХНБ) позволила установить, что с возрастом увеличивается количество М-холинорецепторов без изменения их сродства к антагонисту. Необходимо подчеркнуть, что эта закономерность сохранялась независимо от среды определения связывания [ $^3\text{H}$ ]ХНБ, хотя абсолютные значения величин специфического связывания метки варьировали при изменении ионного состава инкубационной среды ( $\text{Na}^+$ ,  $\text{K}^+$ ,  $\text{Mg}^{2+}$ ).

Анализ кривых вытеснения [ $^3\text{H}$ ]ХНБ карбомилхолином показал, что с возрастом почти в 2 раза увеличивается сродство рецепторов к агонистам. Учитывая то, что аффинность рецепторов и последующая трансформация сигнала через плазмалемму определяется степенью сопряжения рецепторов с регуляторными мембраносвязанными ГТФ-связующими белками, аналогичные кривые были получены в присутствии  $10^{-5}\text{M}$  ГТФ. В данном случае сродство рецепторов по-прежнему оставалось выше в препаратах старых животных по сравнению со зрелыми.

Таким образом, установленное нами увеличение количества М-холинорецепторов, а также повышение их сродства к агонистам способствует раскрытию молекулярных механизмов наблюдаемого при старении повышения чувствительности сердца к ацетилхолину.

**ВЛИЯНИЕ БЛОКАТОРОВ КАЛЬЦИЕВЫХ КАНАЛОВ НА ДВА ТИПА  
ФОТОИНДУЦИРОВАННЫХ ЭЛЕКТРИЧЕСКИХ РЕАКЦИИ ПРИ ФОТОТАКСИСЕ  
ЖГУТИКОНОСЦА**

Говорунова Е.Г., Синешкоков О.А., Литвин Ф.Ф.

Московский государственный университет

В процессе фототаксиса поглощение света фоторецептором приводит к генерации комплекса биоэлектрических реакций на плазмалемме. У жгутиконосца *Naematococcus lacustris* при регистрации методом внеклеточного отведения обнаруживаются фотоиндуцированные электрические реакции по крайней мере двух типов. В области предполагаемой локализации фоторецептора генерируется первичный фоторецепторный потенциал /ПФП/, который при увеличении интенсивности действующего света до порогового значения сопровождается регенеративной электрической реакцией /РЭР/, возникающей в области жгутов и соответствующей так называемой стоп-реакции клетки. Оба типа реакций имеют положительный знак, т.е. приводят к деполаризации мембраны. Предполагается, что стационарный уровень ПФП и РЭР обусловлены работой специфических ионных каналов. В данной работе изучалось действие блокаторов кальциевых каналов на оба типа фотоиндуцированных электрических реакций параллельно с регистрацией действия блокаторов на суммарный фототаксис суспензии клеток. Показано, что РЭР подавляется рутением в концентрациях, не влияющих на стационарный уровень ПФП /5-10 мкМ/. Верапамил и дилтиазем /10-100 мкМ/ действуют на оба типа фотоиндуцированных электрических реакций, однако РЭР подавляется в большей степени, чем стационарный уровень ПФП. Эти различия в действии блокаторов позволяют предположить, что два типа фотоиндуцированных электрических реакций осуществляются при участии различных типов каналов. Действие блокаторов на РЭР подтверждает предположение о том, что стоп-реакция клетки обусловлена работой потенциал-зависимых кальциевых каналов. Природа каналов, обеспечивающих генерацию ПФП, остается неизвестной, однако слабая чувствительность их к блокаторам кальциевых каналов позволяет предположить, что они не являются кальций-селективными. На это же указывает слабая зависимость стационарного фоторецепторного тока от содержания кальция в среде вплоть до удаления следов при добавлении ЭДТА.

**МОДИФИКАЦИЯ ГТФ-СВЯЗЫВАЮЩИХ БЕЛКОВ БОТУЛИНИЧЕСКОЙ  
АДФ-РИБОЗИЛТРАНСФЕРАЗЫ СЗ И ЕЕ ВНУТРИКЛЕТОЧНЫМ АНАЛОГОМ**  
Гоффенберг С.И., Рыбин В.О., Сухомлин Т.К., Курочкин И.Н.,  
Ткачук В.А., Ефименко А.Н.

Научный центр молекулярной диагностики МЗ СССР, Москва,  
Всесоюзный кардиологический научный центр АМН СССР, Москва,  
Институт экспериментальной медицины АМН СССР, Ленинград

Известно, что ГТФ-связывающие белки участвуют в сопряжении рецепторов с различными эффекторными системами, а также регуляции некоторых других клеточных функций. АДФ-рибозилтрансфераза СЗ из Clostridium botulinum способна АДФ-рибозилировать ГТФ-связывающие белки с молекулярной массой 20-25 кДа, относящиеся к группе ras-подобных белков.

В плазматических мембранах, выделенных из желудочков сердца свиньи, мы обнаружили еще один субстрат АДФ-рибозилтрансферазы СЗ с молекулярной массой 65 кДа. Белок был очищен с использованием хроматографии. АДФ-рибозилирование белка 65 кДа стимулируется цитозолем и гуаниловыми нуклеотидами. После гидрофобной хроматографии белок терял способность АДФ-рибозилироваться. В клетках нейробластомы-глиомы NG 108-15 мы обнаружили фермент, способный катализировать включение АДФ-рибозы в белки, идентичные белкам-субстратам АДФ-рибозилтрансферазы СЗ. Предположение об идентичности белков основано на сходстве электрофоретической подвижности как самих субстратов, так и продуктов их протеолиза трипсином. В отличие от самой АДФ-рибозилтрансферазы СЗ эндогенная АДФ-рибозилтрансфераза чувствительна к трипсину и детергенту Lubrol PX. АДФ-рибозилтрансфераза обнаружена во фракции плазматических мембран и способна модифицировать как субстраты в тех же мембранах, так и в мембранах, выделенных из желудочков сердца свиньи.

**НЕЙРОНАЛЬНЫЕ РЕЦЕПТОРЫ, ВЗАИМОДЕЙСТВУЮЩИЕ С ПРИРОДНЫМИ  
НЕЙРОТОКСИНАМИ**

Гришин Е.В.

Институт биоорганической химии АН СССР, Москва

Исследовано взаимодействие нейротоксина из яда паука каракурта (альфа-латротоксина) с препаратами мембран коры головного мозга быка. Разработан метод выделения рецептора

латротоксина и найдены параметры связывания латротоксина ( $K_d = 9 \cdot 10^{-10} M$ ;  $V_{max} = 1,6$  нмоль/мг). Установлено, что в состав рецептора латротоксина входят белковые компоненты молекулярной массы 200 кДа, 160 кДа, 79 кДа и 43 кДа. Гликопротеины 200 кДа и 160 кДа обладают способностью непосредственно связывать токсин. Все компоненты рецепторного комплекса выделены в индивидуальном виде и охарактеризованы. Изучено влияние латротоксина на процесс накопления и высвобождения глутамата синапсами мозга крысы. При инъекции мРНК мозга в ооциты *Xenopus* найдено, что происходит трансляция рецепторных компонентов, сопровождающаяся появлением ионных каналов, активируемых латротоксином. Осуществлено клонирование, определена нуклеотидная последовательность структурного гена альфа-латротоксина и изучена особенность его молекулярной организации.

Для исследования постсинаптических глутаматных рецепторов использованы низкомолекулярные полиаминные токсины из яда пауков (аргиопинины), блокирующие ионные токи, активируемые глутаматом. Из мембран коры мозга быка выделены рецепторные компоненты, обладающие способностью одновременно связывать глутамат и аргиопинины. Показано, что гликопротеины 40 кДа и 68 кДа непосредственно взаимодействуют с полиаминными токсинами из яда пауков.

#### ГОРМОН-РЕЦЕПТОРНЫЕ ВЗАИМОДЕЙСТВИЯ ПРИ ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОМ ОЖГОВОМ СТРЕССЕ

Давлетов Э.Г., Камиллов Ф.Х.

Башкирский медицинский институт, Уфа

Цель настоящего исследования состояла в изучении изменений гормон-рецепторных взаимодействий при термических поражениях в эксперименте. Экспериментальной моделью ожоговой болезни служила термическая травма кожи IIIA-IIIБ степени у крыс одномесячного возраста площадью 23-25% поверхности тела, вызываемая под эфирным наркозом путем погружения предварительно эпилированных спинки и боковых поверхностей туловища животных в кипящую воду ( $100^{\circ}C$ ). Специфическое связывание инсулина с рецепторами плазматических мембран лимфоцитов исследовали по методу J.Roth (1975). Процессы комплексобра-



звания меченых тритием опиоидных лигандов с опиатными рецепторами головного мозга крыс изучали с применением метода вакуумного фильтрования через фильтры GF/B ("Whatman", Англия). Определение содержания рецепторов андрогенов (РА) в цитозоле печени проводили методом насыщающей добавки специфического лиганда ( $[^3\text{H}]$ метилтриенолона).

При исследовании взаимодействия инсулина с рецепторами лимфоцитов было установлено, что уже на 1-е сутки после ожога снижается инсулин-рецепторное взаимодействие, и особенно резко это понижение проявилось на 3-и сутки. Уровни связывания опиоидных дельта- и мю-лигандов с высокоаффинными и низкоаффинными центрами связывания головного мозга обожженных крыс не претерпевали заметных изменений по сравнению с контролем во все сроки эксперимента. Показано выраженное снижение содержания РА в цитозоле печени крыс через 1 сутки и в конце 1-ой недели после термической травмы (соответственно на 32,8% и 56,6%).

Таким образом, термическая травма приводит к угнетению связывания белковых и стероидных гормонов со специфическими клеточными рецепторами. Нарушение рецепторного звена действия гормонов усугубляет сдвиги гормонального фона, вызванные термическим воздействием. Полученные результаты существенно дополняют схему патогенеза ожогового стресса.

#### **ИММУНОХИМИЧЕСКАЯ ИДЕНТИФИКАЦИЯ ГЛУТАМАТНЫХ РЕЦЕПТОРОВ НЕ NMDA-ТИПА ГОЛОВНОГО МОЗГА ЧЕЛОВЕКА**

Дамбинова С.А.

Институт экспериментальной медицины АМН СССР, Ленинград

Представлены данные комплексных исследований глутамат-связывающих мембранных белков /ГМБ/ головного мозга человека с помощью поли- и моноклональных антител. Очищенные ГМБ связывали L- $[^3\text{H}]$ глутамат с  $K_d = 319$  нМ,  $V_{\max} = 2,22$  нмоль/мг белка. Электрофорез в ПААГ с ДС-На позволил выявить мажорный компонент с молекулярной массой 68 кДа и минорные компоненты: 14,35 и 90 кДа. Представлены результаты связывания компонента 68 кДа с мечеными  $[^3\text{H}]$ каинамом и  $[^3\text{H}]$ АМРА. Поли-моноклональные антитела /МКАТ/ к ГМБ были использованы для изучения этих белков, выделенных из разных объектов (мозга лягушки, быка,

крысы и человека) с помощью иммуноблотинга. Обнаружены общие антигенные детерминанты между компонентами рецептора с  $M^r$  35–40 кДа. Оказалось, что компоненты 65–68 кДа выявляются отчетливо только у человека. МКАТ 8E12/IgM/ идентифицировали белок 65–68 кДа и фрагмент 14 кДа, предположительно являющийся продуктом протеолитической деградации. МКАТ 7C5 /IgG/ идентифицировали только белок 65–68 кДа. Указанные МКАТ 7C5 ингибировали высокоаффинное связывание с L-[ $^3H$ ]глутаматом и [ $^3H$ ]ДМРА. Полученные данные позволяют предположить, что МКАТ 7C5 идентифицируют квисквалатный тип глутаматных рецепторов.

Имуногистохимический анализ срезов посмертных препаратов коры головного мозга человека показал, что МКАТ 7C5 идентифицируют группы нейронов, нейропилль и нервные волокна; МКАТ 8E12 идентифицировали отдельные нейроны и их отростки.

МКАТ 7C5 были использованы в модельных электрофизиологических экспериментах на изолированном спинном мозге лягушки. Инкубация с антителами в течение 24 часов приводила к блокаде полисинаптических компонентов возбуждающих постсинаптических потенциалов, в норме состоящих из моно-, ди- и полисинаптических компонентов. Эффект был сопоставим с действием аргиопина, специфического блокатора ионных каналов глутаматных рецепторов не NMDA типа.

Обсуждаются перспективы использования поли- и моноклональных антител к глутаматсвязывающим мембранным белкам в качестве маркеров структурных поражений мозга человека при эпилепсии с помощью прижизненной позитронно-эмиссионной компьютерной томографии.

## ИССЛЕДОВАНИЕ ЯДЕРНЫХ РЕЦЕПТОРОВ ВИТАМИНА Е В ПЕЧЕНИ КРЫС

Донченко Г.В., Петрова Г.В., Капралов А.А.

Институт биохимии АН УССР, Киев

Важным направлением современной витаминологии является исследование белков-рецепторов различных витаминов. Изучение локализации и функций этих белков направлено на выяснение молекулярных механизмов действия витаминов. Целью работы было изучение внутриядерной локализации и выделение белков-акцепторов витамина Е.

При инкубации изолированных ядер печени крыс с

[<sup>3</sup>H]-альфа-токоферолом, последний обнаруживается в экстракте ядер 1% тритоном X-100, а также во фракциях хроматина и ядерного матрикса. При использовании хроматографии на гидроксиапатите из экстракта ядер 1% тритоном X-100 выделена фракция, характеризующаяся 30-40% разведением метки в присутствии избытка немеченого лиганда. При концентрациях меченого лиганда 3,4-15 нМ наблюдается плато на кривой его связывания.

Полученные данные позволяют высказать предположение о наличии в ядерной мембране специфического рецептора витамина E. Возможно, этот белок выполняет транспортную функцию для альфа-токоферола, перенося его внутрь ядра.

Проведенные исследования по связыванию [<sup>3</sup>H]альфа-токоферола с фракциями хроматина и ядерного матрикса не обнаружили плато на кривой связывания, хотя разведение метки избытком немеченого лиганда в этом случае имело место.

Обнаружено увеличение РНК- и ДНК-полимеразных активностей ядерного матрикса в присутствии альфа-токоферола, что может свидетельствовать о его участии в процессах реализации генетической информации.

Обсуждается возможность существования аналогий между изучаемым токоферол-связывающим белком и белками семейства ядерных рецепторов, в которое входят белки, связывающие витамин D и ретиноевую кислоту.

#### **АКТИВАТОР И БЛОКАТОР ПРОТЕИНКИНАЗЫ C НЕ ВЛИЯЮТ НА КРАТКОВРЕМЕННУЮ ПЛАСТИЧНОСТЬ ХОЛИНОРЕЦЕПТОРОВ НЕЙРОНОВ ППАЗ И ЛПАЗ ВИНОГРАДНОЙ УЛИТКИ**

Дроздова Е.И., Пивоваров А.С., Котляр Б.И.

Московский государственный университет

Кратковременная пластичность нейронов развивается за счет химической модификации плазмалеммы, в частности, фосфорилирования ее структурных компонентов. Не исключено, что Са/фосфолипид-зависимая протеинкиназа C, локализованная, в основном, в нервной ткани, может участвовать в регуляции кратковременной пластичности нейронов, в частности их холинорецепторов. В данной работе это предположение проверено экспериментально.

Опыты проведены на нейронах ППаЭ и ЛПаЭ виноградной улитки в препарате изолированных ганглиев. Регистрировали трансмембранные ионные токи с помощью методики двухэлектродной фиксации потенциала на мембране. В качестве модели кратковременной пластичности холинорецепторов использовали угашение входящего тока, вызванного ацетилхолином, в процессе его ритмических локальных ионофоретических аппликаций на сому.

Обнаружено, что внеклеточное приложение фторболового эфира - 12-0-тетрадеcanoилфторбол-13-ацетата (0,1-10 мкМ), активирующего протеинкиназу С, или блокатора этой киназы - полимиксина В (100-500 мкМ) не влияет на угашение вызванного ацетилхолином входящего тока. Полученные результаты позволяют исключить возможность регуляции пластичности холинорецепторов через протеинкиназу С.

#### **ОСОБЕННОСТИ СУБЪЕДИНИЧНОЙ СТРУКТУРЫ ЦГМФ ФОСФОДИЭСТЕРАЗЫ ФОТОРЕЦЕПТОРНЫХ МЕМБРАН СЕТЧАТКИ**

Думлер И.Л., Артемьев Н.О., Гарновская М.Н.

Институт эволюционной физиологии и биохимии АН СССР,  
Ленинград.

ЦГМФ-фосфодиэстераза (ФДЭ) является эффекторным ферментом, сопряженным с рецептором световых квантов - родопсином и регулирующим содержание вторичного посредника в фоторецепторных клетках сетчатки позвоночных. Несмотря на интенсивное изучение ФДЭ, некоторые структурно-функциональные особенности этого фермента остаются невыясненными. Так, до сих пор окончательно не установлена природа комплексов, образуемых каталитическими (ФДЭ-альфа, ФДЭ-бета) и регуляторной (ФДЭ-гамма) субъединицами ФДЭ. Открыт вопрос и о возможности существования надмолекулярных комплексов фермента. Исследование этих проблем составило задачу настоящей работы.

При помощи антител, моноспецифичных к отдельным каталитическим субъединицам ФДЭ (антитела были любезно предоставлены Х.Г.Мурадовым), установлено гетерогенность формируемых ими комплексов - ФДЭ-альфа-ФДЭ-альфа, ФДЭ-альфа-ФДЭ-бета, ФДЭ-бета-ФДЭ-бета.

Эти данные обсуждаются в соответствии с результатами

компьютерного анализа комплементарности аминокислотных последовательностей субъединиц фермента.

Методом гельфильтрации на сефакриле S-300 показано, что индивидуальные белки ФДЭ способны образовывать стойкие ассоциаты с молекулярной массой 350 кДа, что может соответствовать олигомерным комплексам типа (ФДЭ-альфа-ФДЭ-бета-ФДЭ-гамма)<sub>2</sub> или (ФДЭ-альфа-ФДЭ-бета-ФДЭ-гамма)<sub>2</sub>.

Обсуждается возможный механизм и значение олигомеризации ФДЭ в процессе генерации фотовозбуждения.

При изучении структурного комплекса субъединиц ФДЭ при наследственной дистрофии сетчатки показано нарушение взаимосвязи, между ФДЭ-гамма и ФДЭ-альфа-бета, что может являться причиной обрыва цепи трансдукции зрительного сигнала при данном заболевании.

#### ОПИОИДНЫЕ И АДРЕНЕРГИЧЕСКИЕ РЕЦЕПТОРЫ МОЗГА ПОСЛЕ ВОЗДЕЙСТВИЯ В РАННЕМ ОНТОГЕНЕЗЕ

Дыгало Н.Н., Ширкина Г.Т., Милова А.А., Леваи Д., Корани Л.,  
Эндреци Э.

Институт цитологии и генетики СО АН СССР, Новосибирск,  
Национальный Институт клинических лабораторных исследований,  
Будапешт

Лиганды и другие факторы, влияющие на активность кодирующих рецепторы генов, предполагаются в качестве регуляторов онтогенеза рецепторов мозга. Задачей работы явилось исследование неясной до сих пор возможности менять воздействиями в раннем онтогенезе на длительный период жизни число опиоидных рецепторов мозга их лигандами, а также число адренорецепторов потенциальными регуляторами активности их генов - глюкокортикоидами. Введение самкам крыс с 15 по 18 дни беременности 2 раза в день морфина, агониста опиоидных рецепторов, или налоксона, их антагониста, повышало в 2 и 4 раза, соответственно, число мест специфического высоко-афинного связывания [<sup>3</sup>H]налоксона в мозгу новорожденных потомков через 5 дней после последнего введения препаратов матерям. Однако спустя неделю у 9-дневных крысят этот эффект лигандов опиоидных рецепторов полностью нивелировался. После введения кортикостерона на 16 и 18 дни беременности самкам число мест

специфического связывания [ $^3\text{H}$ ]дигидроальprenолола (бета-адренорецепторов) в мозгу потомков изменялось в течение первых 2 недель жизни по отношению к контрольным животным в обратной зависимости от вызванных гормоном колебаний уровня эндогенного лиганда норадреналина. Число бета-адренорецепторов у животных с гормональным воздействием снижено в I неделю жизни и быстро возрастало ко 2 неделе до значений, превышающих контроль и их число в последующие сроки, когда оно, как и уровень эндогенного лиганда, соответствовало норме. Напротив, степень снижения числа альфа<sub>2</sub>-адренорецепторов (связывание [ $^3\text{H}$ ]клонидина) после гормонального воздействия постоянно нарастала в ходе онтогенеза и ярко выражена у 5-недельных и взрослых животных. Аффинность рецепторов при этом не менялась. Таким образом, влияние лигандов в раннем онтогенезе на число рецепторов относительно непродолжительно и исчезало вскоре после прекращения введения экзогенных или нормализации уровня эндогенных лигандов. Напротив, потенциальные регуляторы транскрипционной активности генов рецепторов способны оказывать длительное влияние на их число.

#### ИЗУЧЕНИЕ РЕЦЕПТОРНЫХ И ФИЗИКО-ХИМИЧЕСКИХ СВОЙСТВ МЕМБРАН ГОЛОВНОГО МОЗГА КРЫС ПРИ ДЕЙСТВИИ ДЕЛЬТА-9-ТЕТРАГИДРОКАННАБИНОЛА

Еременко А.В., Уварова И.С., Куроч. и И.Н.

Научный центр молекулярной диагностики МЭ СССР, Москва

Настоящая работа посвящена изучению действия дельта-9-ТГК на связывание лигандов бета-адренергическими, М-ацетилхолиновыми, D-2-дофаминовыми, 5-НТ-серотониновыми, мю-опиоидными и бензодиазепиновыми рецепторами и физико-химическое состояние нейрональных мембран мозга крыс.

Установлено что в концентрациях 1-10 мкМ дельта-9-ТГК не влияет на специфическое связывание [ $^3\text{H}$ ]QNB, [ $^3\text{H}$ ]DAGO и [ $^3\text{H}$ ]дигидроальprenолола, несколько снижает специфическое связывание [ $^3\text{H}$ ]флунитразепама и снижает уровень специфического связывания [ $^3\text{H}$ ]LSD и [ $^3\text{H}$ ]спиперона. Снижение специфического связывания двух последних лигандов наблюдается на фоне резкого увеличения (в 2-3 раза) общего и неспецифического связывания. Параллельно с этим дельта-9-ТГК увеличивал

микровязкость и нарушал липидбелковые взаимодействия, оцениваемые по эксимеризации пирена и с помощью индуктивно-резонансного переноса энергии с мембранного триптофана на пирен. Однако увеличение микровязкости мембран другими способами (перекисное окисление липидов, обработка фосфолипазой А и холестерином) принципиально иным образом влияет на связывание радиоактивно меченных лигандов с мембранами головного мозга крыс.

## СТРУКТУРНЫЕ ИЗМЕНЕНИЯ ХРОМАТИНА ПРИ СВЯЗЫВАНИИ ГЛЮКОКОРТИКОИД-РЕЦЕПТОРНЫХ КОМПЛЕКСОВ

Житкович А.В.

Институт радиобиологии АН БССР, Минск

В многочисленных экспериментах с использованием техники рекомбинантных ДНК в последние годы убедительно продемонстрировано, что способ регуляции генной активности стероидными гормонами состоит в связывании гормон-рецепторных комплексов в ядре с энхансерными последовательностями ДНК. Однако остается неясным, каким образом происходит передача активирующего сигнала из энхансерной области на промоторную и каков механизм, определяющий интенсивность ответа на гормональную индукцию. Известно, что в общем случае активация транскрипции связана с разрушением второго уровня организации хроматина, т.е. с переходом из 30 нм в 10 нм нуклеосомную нить. В связи с этим нами предпринята попытка охарактеризовать структурные изменения хроматина клеток печени, индуцируемые взаимодействием с глюкокортикоид-рецепторными комплексами (ГРК).

Обнаружено, что в присутствии двухвалентных катионов ( $0,4 \text{ мМ Mg}^{2+}$  и выше) ГРК вызывают отчетливую декомпактизацию изолированных нуклеосомных фибрилл (регистрируемую методом КД). Действие ГРК на структуру хроматина являлось обратимым. Появление ГРК-индуцированных структурных перестроек в хроматине положительно коррелирует с появлением высокого уровня соль-резистентного связывания ГРК. На основании вышеприведенных результатов и данных по ГРК-индуцированным структурным перестройкам олигонуклеосом с различным субфракционным составом гистона H1 предлагается модель стероид-зависимой декомпактизации хроматина, в основе которой лежит изменение

кооперативных свойств гомополимерной цепи гистона H1.

**АЛЬФА<sub>1</sub>-ТИМОЗИН И АЛЬФА<sub>2</sub>-ИНТЕРФЕРОН КОНКУРИРУЮТ ЗА ОБЩИЕ  
ВЫСОКОАФФИННЫЕ РЕЦЕПТОРЫ НА ПОВЕРХНОСТИ ИММУНОКОМПЕТЕНТНЫХ  
КЛЕТОК**

Завьялов В.П., Наволоцкая Е.В., Володина Е.Ю., Василенко Р.Н.,  
Кауров О.А., Прусаков А.Н., Майоров В.А., Кожич А.Т.,  
Исаев И.С., Галактионов В.Г.

Институт иммунологии, Лябучаны,

ВНИИ особо чистых биопрепаратов, Ленинград,

Институт биоорганической химии АН СССР, Москва

Ранее была обнаружена статистически значимая гомология в первичной структуре С-концевого домена альфа<sub>2</sub>-интерферона (IFN-альфа<sub>2</sub>) и альфа<sub>1</sub>-тимозина (ТМ-альфа<sub>1</sub>). С целью выяснения биологического значения структурного сходства этих белков были синтезированы ТМ-альфа<sub>1</sub> и пептиды из IFN-альфа<sub>2</sub> и ТМ-альфа<sub>1</sub>, соответствующие области наибольшей гомологии. Установлено, что октапептид (авторское название альфа-пептоферон-альфа-PFN) из соответствующей области IFN-альфа<sub>2</sub> взаимодействует с высокоаффинными рецепторами тимоцитов с  $K_d = 4,2 \cdot 10^{-12}$  М. Взаимодействие ингибируется как ТМ-альфа<sub>1</sub>, так и IFN-альфа<sub>2</sub>. Общие для ТМ-альфа<sub>1</sub> и IFN-альфа<sub>2</sub> рецепторы выявлены на поверхности макрофагов и спленоцитов. альфа-PFN активизирует бластную трансформацию тимоцитов (в присутствии 2,5 мкг Кон А) в концентрации  $10^{-11}$  М и на молярном уровне более активен, чем IFN-альфа<sub>2</sub> и ТМ-альфа<sub>1</sub>. Полученные результаты свидетельствуют об общности эволюционного происхождения IFNs-альфа и ТМ-альфа<sub>1</sub> и общих механизмах их иммуномодулирующего действия.

**ЛИГАНД-РЕЦЕПТОРНЫЕ ВЗАИМОДЕЙСТВИЯ С СИСТЕМЕ ОПИОИДНЫХ  
РЕЦЕПТОРОВ. КИНЕТИЧЕСКИЕ МОДЕЛИ НАРКОМАНИИ**

Зайцев С.В., Варфоломеев С.Д.

Московский государственный университет

Исследованы физико-химические механизмы взаимодействия лигандов  $\mu$  ( $[^3\text{H}]$ морфин,  $[^3\text{H}]$ налоксон,  $[^3\text{H}]$ DAGO) и дельта ( $[^3\text{H}]$ DSLET,  $[^3\text{H}]$ DADLE) с системой опиоидных рецепторов головного мозга крысы и мыши. С использованием комплекса



оригинальных подходов анализа изотерм связывания и кривых конкурентного вытеснения - метода имитационного моделирования и разностного метода (программа ДЕЛЬТА) установлена гетерогенность как  $\mu$  опиоидных центров связывания (классические  $\mu$  рецепторы и  $\mu_1$  центры) так и опиоидных центров (классические дельта рецепторы и супервысокоаффинные центры связывания дельта лигандов). Существование отличающихся друг от друга подтипов  $\mu$  и дельта центров связывания подтверждаются данными по их различной регуляции ионами металлов, гуаниловыми нуклеотидами и pH. Изучение влияния длительного введения - морфина животными на свойства опиоидных рецепторов также говорит в пользу существования подтипов  $\mu$  и дельта центров связывания. Установлено, что формирование толерантности и физической зависимости не изменяет параметров гетерогенной популяции  $\mu$  центров, в то - время как параметры системы дельта опиоидных центров достоверно изменяются. Предложены кинетические модели формирования физической зависимости. Компьютерный анализ данных моделей показывает, что для формирования физической зависимости необходимо двойное действие наркотического вещества на сопряженные с рецепторами эффекторные системы.

**ВЛИЯНИЕ ХРОНИЧЕСКОГО ВВЕДЕНИЯ МОРФИНА НА СВОЙСТВА  
СУПЕРВЫСОКОАФФИННОГО ЦЕНТРА СВЯЗЫВАНИЯ ДЕЛЬТА-ЛИГАНДА**

Ильина А.Д., Клодт П.М., Юхананов Р.Ю., Григорьев А.А.,  
Майский А.И.

Московский государственный университет  
Институт фармакологии АМН СССР, Москва

На коре головного мозга мышей обнаружено достоверное увеличение связывания селективного дельта-лиганда с его супервысокоаффинным центром вследствие хронической обработки морфином. Результат получен в ходе исследования динамики изменения характеристик связывания пептидов  $[[^3\text{H}]-\text{Tyr-D-Ser}^2, \text{Leu}]-\text{энкефалина (Thr}^6) - ([^3\text{H}]\text{DSLET})$  и  $[[^3\text{H}]-\text{Tyr-D-Ala}^2, \text{N-Me-Phe}^4, \text{Gly}^5\text{ol}]-\text{энкефалина } ([^3\text{H}]\text{DAGO})$  с рецепторами коры головного мозга мышей  $F_1$  (C57Bl\*СВА)-гибрид, которым от 6 до 96 часов были подкожно имплантированы таблетки с морфином (75 mg, base) или глюкозой в качестве контроля. Обработка

результатов проводилась с использованием программы DELTA.

Показано, что отсутствуют достоверные изменения параметров, характеризующих связывание пептидов [ $^3\text{H}$ ]DSLET- селективного дельта-лиганда и [ $^3\text{H}$ ]DAGO-селективного мю-лиганда с классическими дельта- и мю-рецепторами и с супервысокоаффинным центром связывания мю-лиганда. Обнаружено достоверное увеличение связывания [ $^3\text{H}$ ]DSLET с его супервысокоаффинным центром. Показано, что введение морфина не вызывает изменений концентрации супервысокоаффинных центров связывания [ $^3\text{H}$ ]DSLET. При этом имеет место увеличение сродства лиганда (в 3.5 раза по отношению к контролю). Кинетическая кривая изменения сродства относительно контроля характеризуется  $t_{1/2}=17.5$  ч.

Таким образом, хроническое введение морфина дифференцировано влияет на свойства супервысокоаффинных центров связывания дельта- и мю-лигандов опиатных рецепторов. Это подтверждает выдвинутое нами предположение о наличии двух супервысокоаффинных центров связывания, соответственно дельта- и мю-рецепторов, и возможность их независимой регуляции.

#### **ОБНАРУЖЕНИЕ И ХАРАКТЕРИСТИКА НЕИЗВЕСТНОГО РАНЕЕ ТИПА ОПИАТНЫХ РЕЦЕПТОРОВ ИММУНОКОМПЛЕНТНЫХ КЛЕТОК**

Исаев И.С., Наволоцкая Е.В., Абрамов В.М., Василенко Р.Н.

Институт иммунологии Минмедпрома, Любучаны

На поверхности тимоцитов и перитонеальных макрофагов мышей обнаружено два типа рецепторов к [ $^3\text{H}$ ]бета-эндорфину: рецепторы первого типа были чувствительны к [ $^3\text{H}$ ]бета-эндорфину, [ $^3\text{H}$ ]мет-энкефалину, [ $^3\text{H}$ ]лей-энкефалину и [ $^3\text{H}$ ]морфину; рецепторы второго типа взаимодействовали только с [ $^3\text{H}$ ]бета-эндорфином и синтетическим декапептидом, соответствующим С-концевой последовательности бета-эндорфина. На основании этого был сделан вывод о том, что на поверхности тимоцитов и макрофагов имеются рецепторы, с которыми бета-эндорфин взаимодействует С-концевой частью молекулы. Определены кинетические параметры специфического связывания ( $K_d$  комплексов пептид-рецептор и плотность рецепторов) [ $^3\text{H}$ ]бета-эндорфина с рецепторами обоих типов. Показано отсутствие рецепторов второго типа на синаптических мембранах головного

мозга мышц.

Установлено, что рецепторам обоих типов принадлежит важная роль в регуляции функциональной активности иммунокомпетентных клеток.

### **РАДИАЦИОННОИНДУЦИРОВАННАЯ МОДИФИКАЦИЯ АДЕНИЛАТЦИКЛАЗНОЙ СИСТЕМЫ ГЛАДКОМЫШЕЧНЫХ КЛЕТОК СОСУДОВ**

Кармальков С.А., Милютин А.А.

Институт радиобиологии АН БССР, Минск

Одной из главных причин возникновения сосудистых нарушений в пострadiационный период является изменение механизмов восприятия и трансмембранной передачи гормональных сигналов. Основным звеном, участвующим в реализации регуляторных воздействий является аденилатциклазная система (АЦС) плазматических мембран (ПМ). Исходя из вышесказанного, в данной работе исследовалось функциональное состояние компонентов АЦС ПМ гладкомышечных клеток (ГМК) аорты крыс при тотальном гамма-облучении в дозе 0,5, 1 и 4 Гр.

Методом радиолигандного анализа специфического связывания бета-адреноантагониста - [<sup>3</sup>H]дигидроальprenолола установлено, что на 3 и 30 день пострadiационного воздействия в дозе, 0,5 и 1 Гр количество бета-адренорецепторов ПМ ГМК снижается, а на 180 день пострadiационного периода - не отличается от контрольных значений. При облучении в дозе 4 Гр количество рецепторов падает только на 3 и 10 день, нормализуясь к 30 дню наблюдения.

Установлено, что с увеличением дозы облучения снижается изопротеренол-стимулированная активность АЦ, в то время как фтор-зависимая активация фермента возрастает, базальная активность при этом не отличалась от контроля во всех случаях наблюдения. Предполагается, что исследованные дозы радиации вызывают модификацию функционального состояния АЦС ПМ ГМК главным образом на уровне сопрягающих N-белков.

## КИНЕТИКА ВЗАИМОДЕЙСТВИЯ ГОРМОН-БЕЛКОВЫХ КОМПЛЕКСОВ С МЕМБРАННЫМИ ВЕЗИКУЛАМИ

Киселева Е.П., Вашкевич И.И., Аввакумов Г.В.

Институт биоорганической химии АН БССР, Минск

Изучено взаимодействие стероидных комплексов транскортина и его структурного варианта с микровезикулярной фракцией плазматической мембраны синцитиотрофобласта плаценты человека. Определены кинетические параметры ( $K_D$  и  $V_{max}$ ) мембранного связывания транскортина и его структурного варианта, а также кортизола при  $23 \pm 2^\circ\text{C}$ . Установлено, что образование комплексов с данными белками не препятствует взаимодействию стероида с мембранами и его трансмембранному переносу ( $V_{max} 1 \cdot 10^{-10}$  М/мин как в отсутствие, так и в присутствии связывающих белков), а реализации гормонального эффекта кортизола.

Показано, что связывание  $^{125}\text{I}$ -меченного транскортина (в виде комплекса с кортизолом) мембранными везикулами зависит от внутривезикулярного объема. Это означает, что белок не только взаимодействует с рецепторами на внешней поверхности мембраны синцитиотрофобласта, но и переносится через мембрану. Об этом же свидетельствует тот факт, что в присутствии транскортина снижается ферментативное окисление переносимого через мембрану стероида.

Таким образом, взаимодействие стероид-белковых комплексов с плазматической мембраной ткани-мишени стероидного гормона является важным этапом передачи гормонального сигнала в клетку. Перенос транскортина через мембрану синцитиотрофобласта, возможно, является одной из стадий механизма направленного транспорта данного белка через плацентарный барьер.

## ВЛИЯНИЕ ХРОНИЧЕСКОЙ МОРФИНИЗАЦИИ НА ФУНКЦИОНАЛЬНУЮ АКТИВНОСТЬ ОПИАТНЫХ РЕЦЕПТОРОВ

Клодт П.М., Ильина А.Д., Юхананов Р.Ю.

Институт фармакологии АМН СССР, Москва,

Московский государственный университет

Имплантация таблеток с морфином мышам  $F_1$ -гибридам (C57BlxSwA) вызывает развитие толерантности к анальгетическому эффекту морфина, который определялся по тесту "tail-

flick", с  $t_{1/2}=30$ ч. У тех же животных изучалась способность d-Ala<sup>2</sup>,d-Leu<sup>5</sup>-энкефалина (лиганда дельта-опиатных рецепторов) и бета-казоморфина (лиганда мю-опиатных рецепторов) ингибировать сокращения vas deferens. Кинетический анализ изменения ED<sub>50</sub> (который проводился по программе "LOGSTAT") показал, что толерантность к бета-казоморфину развивается с  $t_{1/2}=63$  ч, тогда как к DADLE с  $t_{1/2}=25.4$  ч, однако толерантность к DADLE оказывается не стойкой и ED<sub>50</sub> к DADLE уже к 96 часам не отличается от контроля.

На основе кинетических данных можно предположить, что развитие толерантности к анальгетическому эффекту связано с изменением функциональной активности дельта-рецепторов. Полученные результаты позволяют говорить о дифференцированном изменении мю- и дельта-рецепторов при хронической морфинизации. При этом изменения дельта-опиатных рецепторов имеют преходящий характер, тогда как изменение функциональной активности мю-рецепторов носят более стойкий характер и вероятно связаны с развитием физической зависимости.

#### **ВЛИЯНИЕ ОКСИТОЦИНА НА ПОТЕНЦИАЛОЗАВИСИМЫЙ ВХОД КАЛЬЦИЯ В КЛЕТКИ ФЕОХРОМОЦИТОМЫ РС12 И НЕЙРОНЫ ВИНОГРАДНОЙ УЛИТКИ**

Колчинская Л.И., Николаенко Л.Н., Погорелая Н.Х.

Институт физиологии АН УССР, Киев

Известно, что различные биологически активные соединения (нейромедиаторы, гормоны, простагландины и т.д.) могут регулировать работу потенциалозависимых кальциевых каналов в клетках либо непосредственно, либо через систему цитоплазматических вторичных посредников.

Ранее было показано, что нейрогипофизарные гормоны млекопитающих вазопрессин и окситоцин блокируют функционирование потенциалозависимых кальциевых каналов в культуре мышечных клеток аорты, причем в этом процессе участвует протеинкиназа С.

В настоящей работе исследовалось влияние окситоцина на потенциалозависимые кальциевые каналы клеток культуры феохромоцитомы РС12 и нейронов виноградной улитки. Работу потенциалозависимых кальциевых каналов идентифицировали по входу радиоактивного кальция в клетки при деполяризации,

вызванной повышением концентрации ионов калия во внешнем растворе.

Было обнаружено, что  $10^{-6}$  М окситоцин полностью блокирует вход  $^{45}\text{Ca}$  в клетки ( $50 \text{ мМ K}^+$  в наружной среде), а  $K_{0,5}$  для ингибирующего действия окситоцина составляет величину около  $0,3 \cdot 10^{-6}$  М. Показано, что кривая доза-эффект сдвигается в сторону меньших концентраций окситоцина в присутствии в наружной среде ионов лития, который, как известно, является ингибитором некоторых ферментов, принимающих участие в гидролизе инозитолфосфатов.

На основании собственных результатов и данных литературы выдвинуто предположение об участии продуктов гидролиза фосфатидилинозитолбисфосфата в опосредовании эффекта окситоцина на вход ионов кальция через потенциалозависимые кальциевые каналы исследованных клеток.

#### **БЕТА-АДРЕНЕРГИЧЕСКИЕ И МУСКАРИНОВЫЕ АЦЕТИЛХОЛИНОВЫЕ РЕЦЕПТОРЫ В ПАРЕНХИМЕ ЛЕГКИХ ЧЕЛОВЕКА ПРИ ЗЛОКАЧЕСТВЕННЫХ НОВООБРАЗОВАНИЯХ**

Кондратенко Т.Я., Кузина Н.В.

Научный центр молекулярной диагностики МЗ СССР, Москва

В настоящей работе изучены бета-адренергические и мускариновые ацетилхолиновые рецепторы в паренхиме легких человека, полу-ченной при резекции у больных легочной аденокарциномой (группа больных раком,  $n=12$ ) и при сегментарной резекции у пациентов с диагнозом туберкулемы в пределах здоровых тканей (контрольная группа,  $n=10$ ).

Показано, что связывание бета-адренергического радиолганда [ $^3\text{H}$ ]дигидроальprenолола ([ $^3\text{H}$ ]ДГА) мембранами паренхимы легких было насыщаемым и высокоаффинным как в контрольных образцах, так и при раке. Анализ в координатах Скотчарда показал, что высокоаффинный участок связывания характеризуется следующими параметрами:  $K_d$  (константа диссоциации) =  $1,0 \pm 0,1$  нМ,  $V_{\max}$  (максимальное число мест связывания) =  $456,7 \pm 73,7$  фмоль/мг белка (средние значения-SEM) для контрольной группы;  $K_d = 0,5 \pm 0,08$  нМ,  $V_{\max} = 84,1 \pm 14,5$  фмоль/мг белка (средние значения-SEM) для группы больных раком.

Связывание мускаринового антагониста [ $^3\text{H}$ ]хинуклидинил-

бензилата ( $[^3\text{H}]\text{QNB}$ ) в паренхиме легких было насыщаемым и высокоаффинным как в контрольных образцах, так и при злокачественном росте. Аффинность связывания  $[^3\text{H}]\text{QNB}$  практически не менялась; однако наблюдалось значительное повышение числа мест связывания в группе больных раком (контрольная группа:  $K_d=0,45\pm 0,07$  нМ,  $B_{\text{max}}=108,9\pm 12,1$  фоль/мг белка; группа больных раком:  $K_d=0,55\pm 0,09$  нМ,  $B_{\text{max}}=377,5\pm 65,5$  фмоль/мг белка).

Обнаружено, что концентрация бета-адренергических рецепторов значительно уменьшается, а мускариновых рецепторов повышается в паренхиме легких при злокачественных новообразованиях по сравнению со здоровой тканью.

Полученные данные позволяют предположить определенную роль бета-адренергических и мускариновых ацетилхолиновых рецепторов в патогенезе злокачественных опухолей легких человека и, возможно, наметить некоторые новые пути терапии направленного действия.

#### **СИСТЕМЫ ВТОРИЧНЫХ МЕССЕНДЖЕРОВ, СОПРЯЖЕННЫЕ С РЕЦЕПТОРАМИ ФАКТОРА РОСТА НЕРВОВ**

Кондратьев А. Д., Северин С. Е.

Научный центр молекулярной диагностики МЗ СССР, Москва

Фактор роста нервов (ФРН) – белок, определяющий нормальное развитие и функционирование симпатических сенсорных и ряда центральных нейронов. Открыты и охарактеризованы специфические рецепторы фактора и показано его влияние на несколько различных систем вторичных мессенджеров. К их числу относятся системы обмена фосфоинозитидов, кальциевой регуляции, метилирования фосфолипидов, а также гуанилатциклазная система. Тем не менее, механизм его действия не ясен.

Нами исследовано влияние ФРН на ферментные комплексы, связанные с аденилатциклазной системой и системой протеинкиназы С, на клетках феохромоцитомы РС12. Эти клетки являются удобной моделью для изучения механизма действия ФРН. Изучено влияние фактора роста нервов на активности аденилатциклазы и высокоаффинной GТРазы клеток РС12. Показана, что после инкубации клеток с ФРН происходит быстрая активация аденилатциклазы, сопровождающаяся ингибированием высокоаффинной

ГТРАЗЫ. Изучено влияние ФРН на внутриклеточную локализацию регуляторной субъединицы II типа (RII) протеинкиназы А-основного рецептора cAMP в эукариотических клетках. Показано, что уже через 4 часа после добавления к клеткам ФРН RII начинает выходить из клеточного ядра, где она локализована в быстро делящихся клетках PC12. Появление RII в цитоплазме характерно для клеток PC12 находящихся в покое. В докладе рассматривается связь между локализацией протеинкиназы А и ФРН-зависимым блоком пролиферации.

Изучено влияние ФРН на активность и внутриклеточную локализацию протеинкиназы С. Показано быстрая транслокация этого фермента на мембрану клеток PC12 под действием ФРН и блокада этого процесса стимуляторами ФРН-зависимого роста нейритов. С помощью метода проточной цитофлуориметрии установлена зависимость между индукцией роста нейритов, локализацией протеинкиназы С, интенсивностью пролиферации и стадиями клеточного цикла.

#### **ВНУТРИКЛЕТОЧНЫЙ ЦИКЛ КОРТИКОСТЕРОИДНЫХ РЕЦЕПТОРОВ**

Конопля, Е.Ф., Лукша Г.Л., Гаврилин М.А., Монтик В.И.,  
Селявко В.В.

Институт радиобиологии АН БССР, Минск

Проведено исследование ряда последовательных этапов реализации биологического эффекта кортикостероидов на уровне клеток-мишеней.

Изучен внутриклеточный цикл рецепторов глюкокортикоидов клеток печени при введении дексаметазона (Д). Полный внутриклеточный цикл рецепторов, включающий связывание последних с лигандом, активацию вновь образованных глюкокортикоид-рецепторных комплексов (ГРК), транслокацию их в ядро и возвращение рецепторов в цитоплазму занимает 48ч. Эксперименты по совместному введению крысам Д и циклогексимида или же Д и актиномицина Д показали, что для завершения рецепторного цикла и восстановления исходного уровня рецепторов в цитоплазме требуется синтез белка *de novo*, в том числе и за счет образования новых РНК. В последнее время получила распространение точка зрения множественности акцепторных центров для стероид-рецепторных комплексов (СРК) в ядрах клеток-мишеней.



В соответствии с этими представлениями СРК связываются с различными ядерными компонентами одновременно или последовательно, регулируя экспрессию генов в целом ряде участков. При изучении взаимодействия очищенных ГРК с различными ядерными фракциями клеток печени показано, что взаимодействие их с транскрипционно-активными участками хроматина в 2 раза выше, чем с относительно неактивным хроматином. Выявлено специфическое связывание ГРК с фракциями ядерной оболочки, ядерного матрикса, а также с РНК-содержащими экстрактами ядер.  $K_d$  ГРК  $V_{max}$  связывающих центров в нуклеоплазме составили соответственно  $10^{-10}$  М и 7,4 пмоль/мг РНК (130 фмоль/мг ядерной ДНК).

При изучении рецепции альдостерона в цитозоле гладкомышечных клеток аорты крыс был обнаружен один тип связывающих мест, при этом, судя по стероидспецифичности связывания с лигандами, относящийся к типу II рецепторов альдостерона ( $K_d=10^{-9}$  М,  $V_{max}=97$  фмоль/мг белка). Исследования внутриклеточных рецепторных систем кортикостероидов будут продолжены.

### **РОДОПСИН-ПОДОБНЫЙ ФОТОЧУВСТВИТЕЛЬНЫЙ РЕЦЕПТОР И ВОЗМОЖНЫЙ МЕХАНИЗМ ТРАНСДУКЦИИ СИГНАЛА У CHLAMYDOMONAS REINHARDTII**

Корольков С.Н., Гарновская М.Н., Думлер И.Л

Институт эволюционной физиологии и биохимии АН СССР,  
Ленинград

Рецепторы, обеспечивающие светозависимые двигательные реакции одноклеточных эукариот остаются малоизученными. Имеются некоторые основания полагать, что в ряде случаев эти фоточувствительные пигменты могут быть подобны зрительным хромопротеинам позвоночных. Структурно-функциональное исследование этих пигментов является перспективным направлением для изучения эволюции первичных механизмов фоторецепции.

Нами проведено исследование рецепторов, обеспечивающих восприятие светового сигнала у одноклеточной жгутиковой водоросли *Chlamydomonas reinhardtii*. Разработаны методы их выделения, очистки и идентификации. При использовании реконструированных систем установлено определенное структурно-функциональное подобие фоточувствительного пигмента  $Ch_1$  *reinhardtii* родопсину фоторецепторных клеток сетчатки быка.

Показано, что родопсин-подобный фоторецептор Ch. reinhardtii содержит в структуре своей молекулы участки, обеспечивающие взаимодействие с ГТФ-связывающим белком (G-белок), и дальнейшую трансдукцию сигнала.

Исследована система G-белок Ch. reinhardtii как возможного участника цепи передачи фотостимула. Показано, что мембраны глазков, содержащие родопсин-подобный пигмент, наиболее обогащены G-белками, о чем свидетельствует высокая активность Gpp-(NH)p-зависимой ГТФазы и высокоспецифическое связывание с Gpp-гамма-[<sup>35</sup>S]. Проведена идентификация данных белков при использовании токсин-зависимого АДФ-рибозилирования и антител, полученных к G-белкам млекопитающих.

Исследованы и обсуждаются возможные пути трансдукции светового сигнала и реализации фотответа у одноклеточных эукариот, а также эволюция этих процессов.

#### **ИЗУЧЕНИЕ ПРОЦЕССА ВЗАИМОДЕЙСТВИЯ СПИРОПЕРИДОЛА С ЦЕНТРАМИ СВЯЗЫВАНИЯ НА ЛИМФОЦИТАХ ЧЕЛОВЕКА: СУЩЕСТВОВАНИЕ ГЕТЕРОГЕННОЙ ПОПУЛЯЦИИ 5-НТ<sub>2</sub> ЦЕНТРОВ**

Кошкин А.А., Изумрудова И.И.

Московский государственный университет

Исследовано взаимодействие [<sup>3</sup>H]спироперидола с рецепторами лимфоцитов крови человека. С использованием метода сравнительного конкурентного вытеснения [<sup>3</sup>H]спироперидола кетансерин, сульпирид, галоперидол, (+) и (-)бутакламом установлено, что центры связывания [<sup>3</sup>H]спироперидола на лимфоцитах соответствуют серотониновым центрам связывания 5-НТ<sub>2</sub> типа. Изучение кинетики и равновесия комплексообразования [<sup>3</sup>H]спироперидола с данными центрами указывает на существование, по крайней мере двух подтипов 5-НТ<sub>2</sub> центров связывания на лимфоцитах человека: высокоаффинных и низкоаффинных. Параметры взаимодействия [<sup>3</sup>H]спироперидола с этими центрами приведены в таблице:

	Высокоаффинные центры связывания	Низкоаффинные центры связы- вания
Константа диссоциации $K_d$ , нМ	0,7	19
Максимальная концентрация центров связывания $V_{max}$ , фмоль/мг белка	15	149
Константа скорости ассоциации $\text{мин}^{-1} \text{нМ}^{-1}$	0,028	0,008
Константа скорости диссоциации $\text{мин}^{-1}$	0,031	0,21

Анализ стабильности выявленных центров подтверждает гетерогенность 5-НТ<sub>2</sub> рецепторов на лимфоцитах человека: в отличие от высокоаффинных низкоаффинные центры связывания существенно менее стабильны при хранении лимфоцитов.

#### РЕЦЕПЦИЯ КОМПЛЕКСОВ ССГ-АНДРОГЕН МЕМБРАНАМИ КЛЕТОК ТРОФОБЛАСТА

Крупенко Н.И., Аввакумов Г.В.

Институт биоорганической химии АН БССР, Минск

Обнаружено, что комплексы ССГ (сексстероидсвязывающего глобулина крови человека) с андрогенами избирательно и с высоким сродством взаимодействуют с плазматическими мембранами синцитиотрофобласта плаценты человека. Отсутствие специфического связывания ССГ, лишённого стероида, а также различие в мембранном связывании комплексов ССГ-тестостерон ( $K_a = 5,3 \cdot 10^{11} \text{ M}^{-1}$ ) и ССГ-5-альфа-дигидротестостерон ( $K_a = 1,3 \cdot 10^{11} \text{ M}^{-1}$ ) свидетельствует о том, что детерминанты узнавания белка мембранами формируются в результате конформационных изменений молекулы ССГ, происходящих при взаимодействии этого белка со стероидами. Физиологическое значение обнаруженного явления, по-видимому, заключается в участии ССГ в направленной передаче гормонального сигнала в клетки плаценты - ткани-мишени андрогенов. Обсуждаются также возможные механизмы проникновения компонентов комплексов ССГ-андроген через плацентарный барьер.

## МЕМБРАННЫЙ РЕЦЕПТОР ТРАНСКОРТИНА ИЗ ЭНДОМЕТРИЯ ЧЕЛОВЕКА

Крупенко С.А., Аввакумов Г.В., Стрельченко О.А.

Институт биоорганической химии АН БССР, Минск

Аффинная хроматография на транскортин-сефарозе препаратов плазматических мембран клеток децидуального эндометрия человека, меченных  $^{125}\text{I}$  и солюбилизованных холатом натрия, показала, что мембранный рецептор транскортина содержит наряду с веществами липидной природы три белковых субъединицы с молекулярными массами (SDS-электрофорез) 20, 90 и >300 кДа. Было установлено, что 20К-субъединица представляет собой склонный к олигомеризации сиалогликопротеин с  $pI=3,3$ . Радиорецепторный анализ в гомогенных бинарных системах в водной среде показал, что данная субъединица образует комплекс с транскортином и, следовательно, в мембране выполняет функцию узнавания этого белка. Обработка комплекса транскортин - 20К-субъединица 1,5-дифтор-2,4-динитробензолом (ДФДНБ) привела к появлению на электрофореграммах зон, соответствующих белкам с молекулярной массой 92 и 136 кДа. Поскольку молекулярная масса транскортина равна 55 кДа, указанные электрофоретические зоны, по-видимому, соответствуют комплексам, состоящим из одной молекулы транскортина и, соответственно, двух или четырех молекул 20К-субъединицы мембранного рецептора транскортина. Для определения функциональной формы 20К-субъединицы в мембранах клеток эндометрия инкубировали препарат мембран с  $^{125}\text{I}$ -меченым транскортином и затем обрабатывали их ЛДФНБ. При этом с помощью SDS-электрофореза была выявлена зона радиоактивности, соответствующая белковому компоненту с молекулярной массой 136 кДа.

Совокупность полученных данных позволяет сделать вывод о том, что в мембранах клеток эндометрия транскортин-связывающая 20К-субъединица рецептора функционирует в виде тетрамера. Две другие субъединицы, по-видимому, принимают участие в передаче гормонального сигнала в клетки и (или) в трансмембранном переносе гормон-белкового комплекса.

## **СОЛЮБИЛИЗАЦИЯ МУСКАРИНОВОГО РЕЦЕПТОРА АЦЕТИЛХОЛИНА РАСТИТЕЛЬНЫМИ ГЛИКОЗИДАМИ**

Кыив А.Х.

Тартуский университет, Тарту

Для солюбилизации мембранных белков широко используют детергенты, солюбилизирующее действие которых базируется на их способности образовывать мицеллы, где белку создается мембраноподобная окружение. Для солюбилизации мускаринового рецептора ацетилхолина мозга крысы эффективным оказалось лишь очень малое число детергентов, в первую очередь растительный гликозид дигитонин.

В данной работе изучена способность 15 растительных гликозидов солюбилизовать нативный мускариновый рецептор.

Найдено, что некоторые изученные гликозиды типа рокозида и агавозида способны экстрагировать из мембраны активный рецепторный белок с выходом до 30%.

Показано, что способность гликозида солюбилизовать мускариновый рецептор и сохранять его активную конформацию в растворе зависит от структуры агликона, а также от количества моносахаридных звеньев в углеводной части молекулы.

С помощью измерения поляризации флуоресценции гидрофобного флуоресцентного зонда дифенилгексатриена, встроенного в мицеллы изучаемых гликозидов, показано, что микровязкость мицелл гликозидов, способных эффективно солюбилизовать мускариновый рецептор, совпадают или несколько превышают значение микровязкости нативной мембраны. В то же время соответствующие значения для ряда детергентов, широко используемых для солюбилизации мембранных белков, значительно меньше. Эти данные указывают на возможную роль микровязкости детергентных мицелл в сохранении активной конформации мускаринового рецептора в растворе.

## **РЕЦЕПТОРЫ ГАЛАНИНА В МОЗГУ КРЫС И ПОРОСЯТ**

Ланд Т.В., Лангел Ю.Л.

Тартуский университет, Тарту

Исследовали закономерности равновесное связывание нейропептида галанина и его фрагмента (1-16) с его рецептором из мозга крыс и поросят методом вытеснения [<sup>125</sup>I]галанина

мозга крыс и поросят методом вытеснения [ $^{125}$ I]галанина (последовательность поросенка). Мембранные препараты рецептора изготавливали из гиппокампа (*hippocampus ventralis*) и гипоталамуса (*hypotalamus*). Иодирование галанина проводили по хлорамин-Т методу. Концентрация [ $^{125}$ I]галанина в инкубационной смеси составляла приблизительно 1нМ, а концентрации немеченного галанина и его фрагмента (1-16) в инкубационной смеси были от 1 мкМ до 1 пМ. Инкубацию проводили в течение 30 мин при температуре 37°C (5мМ HEPES/Krebs-Ringer раствор, pH 7.4). Затем следовало фильтрование инкубационной смеси через стекло-волоконистые фильтры GF/B "Whatman" (Англия) с промыванием фильтров 20 мл холодного раствора HEPES/Krebs-Ringer (pH 7.4).

В гиппокампе и гипоталамусе исследованных животных обнаружены рецепторы галанина с высокой аффиностью. Связывание галанина с его рецептором было насыщающим. Выявлено, что в гипоталамусе концентрация связывающих центров для галанина и его фрагмента (1-16) значительно больше чем в гиппокампе. Найдено, что при вытеснении [ $^{125}$ I]галанина немеченым галанином равновесное связывание описывается простым уравнением Лэнгмюра, причем константа  $K_D$  равна 1 нМ. При вытеснении [ $^{125}$ I]галанина фрагментом галанина (1-16) обнаружено, что взаимодействие этого фрагмента с рецепторами из гиппокампа и гипоталамуса характеризуются различными величинами коэффициента Хилла:  $n_H = 1.0$  и  $0.5$ , соответственно. Этот факт может свидетельствовать о наличии подтипов исследуемого рецептора в гипоталамусе.

#### РАВНОВЕСНОЕ СВЯЗЫВАНИЕ ПИРЕНЗЕПИНА С РАЗЛИЧНЫМИ ПОДТИПАМИ МУСКАРИНОВОГО РЕЦЕПТОРА КОРЫ МОЗГА КРЫС

Ланд Т.В., Карелсон Э.И., Силлард Р.Г., Ярв Я.Л.

Тартуский университет, Тарту

Изучался характер равновесного связывания трициклического антимукаринового лиганда пирензепина (ПЗ) с мускариновым рецептором (МР) мембранных препаратов коры мозга крыс при 25°C. Исследования проводились как методом прямого связывания [ $^3$ H]ПЗ (2-3000 нМ) так и вытеснением немеченым ПЗ (1 пМ-100 мкМ) [ $^3$ H]N-метилскополамина (0,2 нМ).

Обработка в координатах Скэтчарда результатов связывания  $[^3\text{H}]\text{ПЗ}$  выяснила наличие двух пересекающихся прямых. Из наклонов этих прямых вычислялись  $K_D = 15,5 \pm 4,9$  и  $407,0 \pm 156,1$  нМ, соответствующие центрам связывания  $[^3\text{H}]\text{ПЗ}$  с высоким и с низким сродством. При этом, количество связывающих центров высокого сродства, т.е.  $V_{\text{maxI}}$ , составляло примерно 50% от общего количества центров связывания радиолиганда.

Полученные вытеснением ПЗ  $[^3\text{H}]\text{N}$ -метилскополоамином кривые связывания описывались двухцентровой моделью, причем соответствующие величины  $K_D$  являлись  $19,1 \pm 5,4$  и  $690,2 \pm 128,3$  нМ, которые статистически не отличаются от  $K_D$ , полученных при прямом связывании  $[^3\text{H}]\text{ПЗ}$ . Вместе с тем,  $V_{\text{maxI}}$  образовывал около 50% от общей величины  $V_{\text{max}}$  как это было обнаружено и в случае прямого связывания исследуемого лиганда.

Представленные данные свидетельствуют о наличии у МР коры мозга по крайней мере двух центров связывания ПЗ различного сродства. Это тем более вероятно, что данный лиганд обнаруживает кооперативное взаимодействие с МР с коэффициентом Хилла ( $n_H$ ) приблизительно 0,5. Следует прибавить, что данная величина  $n_H$  была вычислена из уравнения равновесного связывания.

#### **МЕМБРАННЫЕ РЕЦЕПТОРЫ АЛЬДОСТЕРОНА И СИСТЕМЫ ВТОРИЧНЫХ ПОСРЕДНИКОВ**

Логвиненко Н.С., Соленов Е.И., Свиташева Н.Г., Иванова Л.Н.  
Институт цитологии и генетики СО АН СССР, Новосибирск

Известно, что действие альдостерона в ткани-мишени начинается с образования гормон-рецепторного комплекса с внутриклеточными рецепторами и с последующим проникновением последнего в ядро. В результате индуцируется синтез специфических белков, определяющих физиологическую функцию альдостерона. Из литературы известно о существовании мембранных рецепторов альдостерона, отличающихся по своим свойствам от цитоплазматических. Нами показаны возрастные особенности содержания мембранных рецепторов в коре почек крыс. Можно предположить, что ряд быстрых эффектов альдостерона опосредуется через мембранные рецепторы и такие вторичные посредники как сАМР и инозитолфосфаты. Задачей настоящей работы явилось

изучение влияния альдостерона на содержание сАМР, инозитолтрифосфата и внутриклеточного  $\text{Ca}^{2+}$  в кортикальных собирательных трубках (КСТ) нефрона почек крыс. КСТ, содержащие максимальное число рецепторов альдостерона, выделяли методом микродиссекции. Концентрацию сАМР определяли с помощью наборов фирмы Амершам, концентрацию [ $^3\text{H}$ ]инозитолтрифосфата измеряли методом ВЭЖХ после предварительной инкубации суспензии коры почек с [ $^3\text{H}$ ]мио-инозитолом. Изменение концентрации  $\text{Ca}^{2+}$  в клетках КСТ оценивали флуориметрически с помощью Quin 2/AM. В результате проведенного исследования было установлено, что через 30 мин. после введения крысам  $10^{-10}$  моля альдостерона концентрация сАМР достоверно не изменяется. Введение  $10^{-9}$ М альдостерона в клеточную суспензию не влияло на концентрацию [ $^3\text{H}$ ]инозитолтрифосфата через 10, 60 и 120 с. Однако, изучение влияния альдостерона на концентрацию  $\text{Ca}^{2+}$  в клетках КСТ показало достоверное повышение в течении минуты после введения гормона в среду.

Таким образом можно предположить участие внутриклеточного  $\text{Ca}^{2+}$  в реализации быстрых эффектов альдостерона в ткани-мишени, помимо таких известных систем вторичных посредников как сАМР и инозитолфосфаты.

#### **МОДИФИКАЦИЯ АКТИВНОСТИ ПРОТЕИНКИНАЗЫ С ПРОДУКТАМИ ПЕРЕКИСНОГО ОКИСЛЕНИЯ ЛИПИДОВ *in vitro***

Мальцева Е.Л., Курнакова Н.В., Пальмина Н.П., Бурлакова Е.Б.  
Институт химической физики АН СССР, Москва.

Протеинкиназа С играет важную роль в передаче информации от различных мессенджеров, фосфорилируя мембранные и цитоплазматические белки, что служит триггерным механизмом переключения клеточного метаболизма. Данный фермент, с одной стороны, как ключевой входит в фосфоинозитидный цикл, запускающийся при действии на его рецептор биологически активных веществ, с другой стороны-является сам рецептором для опухолевых промоторов-форболовых эфиров.

В фосфолипидах и свободных жирных кислотах - эффекторах фермента ненасыщенные алифатические цепи подвергаются окислению. При этом продукты перекисного окисления могут выступать в роли вторичных посредников. В связи с этим нами



было изучено влияние продуктов окисления (диеновых конъюгатов-ДК) фосфолипидов и арахидоновой кислоты на выделенную из сердец кроликов протеинкиназу С.

Показано, что ДК являются ингибиторами (обратимыми) фермента, при действии которых проявляется положительная кинетическая кооперативность с коэффициентом Хилла 1,75 - для ДК фосфолипидов и более 4 для арахидоновой кислоты. Обнаруженное сродство фермента к ДК большее, чем к неокисленным эффекторам и высокая чувствительность к ДК (вследствие положительной кинетической кооперативности) позволяет отнести протеинкиназу С к пероксилипидзависимым ферментам.

На основании анализа кинетических параметров субстратной зависимости, имеющей тип ингибирования возрастающими концентрациями экзогенного субстрата (гистона Н-1) установлено, что при использовании окисленного эффектора сродство фермента к субстрату понижается. При этом ДК ведут себя как ингибиторы смешанного типа.

Наличие кинетической кооперативности по эффектору-ингибитору (ДК) и субстрату приводит к сложному "усилительному" действию окисленных продуктов на активность протеинкиназы С, направленной на подавление ее активности.

Полученные результаты позволяют высказать предположение об участии системы перекисного окисления липидов в рецепторном акте и ответе клетки, осуществляемом через протеинкиназу С.

**АНТИДЕПРЕССИВНЫЕ ВОЗДЕЙСТВИЯ (ЭЛЕКТРОШОК И ВВЕДЕНИЕ ИМИПРАМИНА) ИЗМЕНЯЮТ ХАРАКТЕРИСТИКИ БЕНЗОДИАЗЕПИНОВЫХ (ВЗ) РЕЦЕПТОРОВ И ПОВЫШАЮТ СОДЕРЖАНИЕ ДВИ-ПЕПТИДА В ГОЛОВНОМ МОЗГЕ КРЫС**

Малыгин В.В., Евдокименко С.Г., Жуков В.П.

Институт физиологически активных веществ АН СССР,  
Черноголовка

Государственный медицинский институт, Минск

Электросудорожная терапия (ЭСТ) является эффективным средством лечения эндогенных депрессий, однако молекулярные механизмы, лежащие в основе антидепрессивного эффекта ЭСТ не выяснены. Ранее нами (1983) было показано участие бета-

эндорфина и некоторых других эндогенных нейропептидов в реализации антидепрессивного эффекта ЭСТ. Появляется все больше данных о существенной роли ГАМК-медиаторной системы в патогенезе аффективных расстройств и возможном участии эндогенных нейропептидов в модуляции ГАМК-эргической передачи. В настоящей работе исследовано изменение содержания эндогенного нейропептида, ингибирующего связывание диазепема (DBI-пептид, "пептид тревоги") и свойств бензодиазепиновых рецепторов головного мозга крыс, подвергнутых: 1) 10-дневному (1 раз в день, 80 мА, трансгаурикулярные электроды) электрошоку и, 2) введению имипрамина (10 мг/кг, 1 раз в день, i/p, 14 дней). Содержание DBI-пептида в головном мозге крыс определяли с использованием коммерческих наборов DRG-International; связывание [<sup>3</sup>H]флунизепема (уд. активность 80 Ки/ммоль, "Amersham") проводили по методу (Mohler, Okada, 1977).

Воздействие	связывание Kd, нМ	[ <sup>3</sup> H]флунизепемом Bмаx, пмоль/мг белк.	DBI-пептид нг/мг белка
контроль	1.022±0.011*	1.276±0.039*	35.60±1.14
ЭСТ	0.837±0.016*	1.069±0.009	44.34±2,90
имипрамин	0.963±0.007	1.201±0.071	38.06±1.15

\* -P<0.05; M + S.E.M.; n=7; в дубликатах.

ЭСТ, как и введение классического антидепрессанта имипрамина ведет к повышению содержания DBI-пептида в головном мозге крыс. При этом наблюдаются однонаправленные изменения свойств BZ рецепторов: и введение имипрамина, и курсовой электрошок повышает их аффинность, однако при ЭСТ происходит и статистически существенное снижение числа мест связывания [<sup>3</sup>H]флунизепема.

#### АДФ-РИБОЗИЛИРОВАНИЕ G-БЕЛКОВ КОКЛЮМНЫМ ТОКСИНОМ ПРИ АКТИВАЦИИ T-ЛИМФОЦИТОВ

Малышева Е.Л., Коричнева И.Л., Рыбин В.О., Рудченко С.А.  
Всесоюзный кардиологический научный центр АМН СССР, Москва

## **АДФ-РИБОЗИЛИРОВАНИЕ G-БЕЛКОВ КОКЛЮШНЫМ ТОКСИНОМ ПРИ АКТИВАЦИИ T-ЛИМФОЦИТОВ**

Мальцева Е.Л., Коричнева И.Л., Рыбин В.О., Рудченко С.А.

Всесоюзный кардиологический научный центр АМН СССР, Москва

Для понимания процессов клеточной активации представляется важным изучение механизмов трансмембранной передачи сигнала. Важная роль в передаче сигнала от рецепторов к внутриклеточным эффекторам отводится регуляторным G-белкам. Эти белки являются гетеротримерами. Поскольку степень связывания АДФ-рибозом под действием различных токсинов с альфа-субъединицей G-белков может отражать количество альфа-субъединиц и функциональное состояние G-белков, мы исследовали действие коклюшного токсина (КТ) на G-белки в препаратах мембран интактных и активированных T-лимфоцитов периферической крови человека. T-Лимфоциты активировали, культивируя клетки в присутствии 20 U/мл интерлейкина-2 и 0.5 мкг/мл фитогемагглютинаина.

Мембранные препараты содержат  $G_{12}$  и  $G_{13}$ -субъединицы с молекулярным весом 40 и 41 кДа. КТ-зависимое АДФ-рибозилирование этих белков в активированных клетках было снижено по сравнению с контролем в 1,4-2,2 раза у разных доноров. Наблюдаемое уменьшение АДФ-рибозилирования альфа-субъединиц в мембранах активированных T-лимфоцитов может быть следствием во-первых, транслокации альфа-субъединицы из клеточной мембраны в цитозоль при активации клеток, во-вторых, изменением содержания субъединиц G-белков и, наконец, изменением функциональных свойств G-белков. В свою очередь, все это может приводить к изменению гормональной чувствительности при активации T-лимфоцитов.

## **СВЯЗЫВАНИЕ ТАФТСИНА С ПЛАЗМАТИЧЕСКИМИ МЕМБРАНАМИ МОЗГА КРЫСЫ И КЛЕТКАМИ НЕЙРОБЛАСТОМЫ**

Макарова И.А., Алфеева Л.Ю., Ильина Г.С., Гривенников И.А.

Институт молекулярной генетики АН СССР, Москва

Тафтсин (Thr-Lys-Pro-Arg) широко известен как эндогенный иммуностимулятор. Рецепторы для этого пептида были выявлены и охарактеризованы на макрофагах мыши и крысы, а также на моноцитах и полиморфноядерных лейкоцитах периферической крови

человека. Сравнительно недавно было обнаружено стимулирующее действие тафтсина и некоторых его аналогов на центральную нервную систему млекопитающих. Однако, вопрос о существовании специфических центров связывания для этого пептида на клетках нервной системы до сих пор остается открытым.

Радиолигандным методом с использованием меченого трипсина показано наличие зависимого от ионов кальция специфического связывания исследуемого пептида с плазматическими мембранами мозга крысы и клетками мышечной нейроblastомы линий NB41A3 и Neuro 2a. Связывание тафтсина с мембранами сердца, печени и почек крысы составляет соответственно 14, 16 и 6% от связывания этого лиганда с мембранами мозга.

Обработка клеток нейроblastомы 0.05%-ным раствором трипсина в течение 10 мин. полностью блокирует включение метки, что является указанием на белковую природу изучаемых центров. Было также обнаружено, что классические нейротрансмиттеры, норадреналин, дофамин, серотонин и гистамин, а также универсальный опиатный антагонист налоксон в концентрациях 50 мкМ не оказывают влияния на взаимодействие тафтсина с клетками нервной системы.

**ВЫЯВЛЕНИЕ УЧАСТКА СПЕЦИФИЧЕСКОГО СВЯЗЫВАНИЯ  
ГЛЮКОКОРТИКОИД-РЕЦЕПТОРНЫХ КОМПЛЕКСОВ В ЦЕНТРАЛЬНОЙ ЧАСТИ ГЕНА  
ТРИПТОФАНОКСИГЕНАЗЫ КРЫСЫ. ВЛИЯНИЕ КОНФОРМАЦИИ ДНК НА  
ЭФФЕКТИВНОСТЬ СВЯЗЫВАНИЯ**

Меркулов В.М., Меркулова Т.И.

Институт цитологии и генетики СО АН СССР, Новосибирск

физиологические эффекты глюкокортикоидов, как и других стероидных гормонов, реализуются, главным образом, на уровне транскрипции. В клетках-мишенях глюкокортикоиды образуют комплексы с специфическими рецепторными белками, которые взаимодействуют с определенными последовательностями ДНК в регуляторных участках гормон-зависимых генов и таким образом изменяют их экспрессию.

Известные в настоящее время участки специфического связывания глюкокортикоид-рецепторных комплексов (ГЛРК) локализируются в 5'-фланкирующих районах глюкокортикоид-регулируемых генов, за исключением сайтов связывания ГЛРК в

2-м интроне гена гормона роста, в 3-м интроне гена про-опиомеланокортина и в 3'-фланкирующей области гена, кодирующего рецептор глюкокортикоидов.

При исследовании специфического связывания высокоочищенных ГЛРК с фрагментами ДНК гена триптофаноксигеназы крысы с помощью осаждения комплексов ГЛРК-ДНК моноклональными антителами к глюкокортикоидному рецептору показано, что район гена, лежащий между 4-м и 7-м экзонами, содержит высокоспецифичные сайты связывания ГЛРК. Обсуждается возможная функциональная роль этих сайтов. С использованием плазмиды, содержащей ген триптофаноксигеназы, получены данные о влиянии конформации ДНК на эффективность связывания ГЛРК.

#### **ВЫЯВЛЕНИЕ УЧАСТКОВ ДНК ГЕНОВ ЖИВОТНЫХ И ЧЕЛОВЕКА, ВЗАИМОДЕЙСТВУЮЩИХ С ГЛЮКОКОРТИКОИД-РЕЦЕПТОРНЫМИ КОМПЛЕКСАМИ**

Меркулова Т.И., Селедцов И.А., Соловьев В.В., Плисов С.Ю.,  
Никулина Е.Б.

Институт цитологии и генетики СО АН СССР, Новосибирск

Для анализа известных и выявления новых регуляторных районов в последовательностях ДНК геномов человека и других видов необходимы достоверные методы выявления различных функциональных сайтов. Одним из важных регуляторных элементов, контролирующих экспрессию многих генов, является сайт связывания глюкокортикоид-рецепторного комплекса (ГЛРК).

На основании компьютерного анализа представительной выборки последовательностей ДНК, ответственных за контролируемую глюкокортикоидами экспрессию генов (57 сайтов длиной 73 п.н.), получен достоверный критерий, позволяющий выявлять сайты связывания ГЛРК в любых последовательностях. Используя этот критерий, мы обнаружили 79 сайтов в ДНК 26 генов, регулируемых глюкокортикоидами, и только 6 сайтов в 28 последовательностях генов, не регулируемых этими гормонами. Выявленные сайты располагаются, главным образом, в 5'-фланкирующих областях генов и интронах. Получено экспериментальное подтверждение существования предсказанного с помощью этого критерия сайта в первом интроне гена хорионического соматомаотропина человека и двух сайтов в промоторной области гена цитохрома P450 крыс. Потенциальные сайты

связывания ГлРК обнаружено также в 14 из 16 исследованных последовательностей ДНК ретровирусов, что позволяет сделать предположение о регуляции их экспрессии глюкокортикоидами. Такие сайты выявлены и в ряде генов факторов роста и протоонкогенов.

## **ИНСУЛИНОВЫЕ РЕЦЕПТОРЫ КЛЕТОК КРОВИ И ЭКСПРЕССИЯ Fcγ-РЕЦЕПТОРОВ БЕРЕМЕННЫХ, БОЛЬНЫХ ИНСУЛИНЗАВИСИМЫМ САХАРНЫМ ДИАБЕТОМ**

Микаелян Н.П., Князев Ю.А., Жумагалиева Г.Д.

2-й Московский медицинский институт

При беременности у больных утяжеляется сахарный диабет и возрастают в 2-3 раза лечебные дозы инсулина, поэтому изучение инсулинрецепторных характеристик у больных СД при беременности представляет значительный интерес.

В задачи настоящего исследования входило изучение количественных показателей инсулиновых рецепторов (ИР) эритроцитов (Эр), мононуклеаров (МНК), лимфоцитов, утилизации глюкозы Эр и экспрессии Fcγ-рецепторов у женщин с физиологически протекающей беременностью и беременных, больных инсулинзависимым сахарным диабетом (ИЗСД). Суточная доза полученного инсулина составила 50-76 единиц.

Нами в таком исследовании показано, что несмотря на удовлетворительное состояние диабета (нормогликемия натощак и в течение дня, отсутствие кетоацидоза) связывание инсулина рецепторами на Эр было значительно снижено по сравнению со здоровыми женщинами с беременностью таких же сроков. Это снижение обуславливалось в большей степени уменьшением концентрации рецепторов на клетках и в меньшей степени - снижением сродства рецепторов к инсулину. В группе больных (I) с пониженным связыванием инсулина падение инсулинсвязывающей активности (ИСА) МНК определяется количеством ИР, повышение ИСА в группе больных (II) с высокой концентрацией ИР определяется сродством свободных и занятых рецепторов. В I группе больных количество лимфоцитов несущих Fcγ-рецептор значительно выше по сравнению с контрольной группой ( $P < 0,05$ ). ИСА Т-лимфоцитов больных ИЗСД повышена по сравнению с группой здоровых беременных независимо от характера изменения этого показателя на МНК.

Изменение состояния ИР сочетается с изменением чувствительности к инсулину, определяющаяся нами по скорости утилизации глюкозы в ответ на введение инсулина. Нами установлен факт понижения чувствительности к инсулину со стороны клеток крови, локализованной на уровне рецепторов. Наряду с этим выявлена недостаточность окисления глюкозы, проявляющаяся как в базальных условиях, так и при стимуляции инсулином в его любых концентрациях. Это указывало на более глубокий дефект в клетках, т.е. на инсулин резистентность, локализованную не только на уровне рецепторов, но и в пострецепторных внутриклеточных системах.

#### **ВЫДЕЛЕНИЕ, ОЧИСТКА И ИЗУЧЕНИЕ ФУНКЦИОНАЛЬНОЙ РОЛИ NMDA-СУБТИПА ГЛЮТАМАТНОГО РЕЦЕПТОРА МОЗГА**

Микеладзе Д.Г., Абутидзе К.Д., Соломония Р.О.

Институт физиологии АН ГССР, Тбилиси

Известно, что NMDA субтип глутаматных рецепторов играет ключевую роль в процессах синаптической потенциации, обучении, а также для многих патологических состояний ЦНС. Выяснено, что с рецептором ассоциированы два дополнительных связывающих участка: 1-для анестетика и психомиметика фенциклидина, который связывается с ионным каналом рецептора и блокирует его проводимость, 2-для глицина, усиливающего нейротрансмиттером вызванную деполяризацию посредством увеличения частоты открывания канала рецептора. Была проведена частичная очистка NMDA-субтипа глутаматного рецептора, имеющего фенциклидин-связывающий домен. Мембраны гиппокампа крыс солубилизировались 1%-ным дезоксихолатом натрия, после чего проводилась аффинная хроматография на фенциклидин-сефарозе. Полученный высокоочищенный белковый препарат обладает как глутамат, так и фенциклидин-связывающей активностью. Изучены некоторые кинетические и молекулярные характеристики очищенного белка.

Известно, что в зависимости от скорости ответа нейрона на действие нейротрансмиттера рецепторы делятся на два класса. Показано, что все подтипы глутаматных рецепторов относятся к первому классу в то время как холинорецепторы мускаринового типа и бета-адренорецепторы ко второму классу.

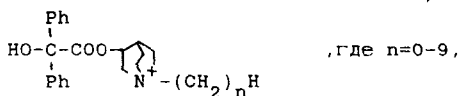
Исследование флуктуации активностей указанных рецепторов во время фиксации следов памяти импринтинга у цыплят выявило различную картину в зависимости от класса и типа рецептора.

**КИНЕТИКА И МЕХАНИЗМ ВЗАИМОДЕЙСТВИЯ N-АЛКИЛЗАМЕЩЕННЫХ  
ПРОИЗВОДНЫХ ХИНУКЛИДИНИЛБЕНЗИЛАТА С МУСКАРИНОВЫМ  
РЕЦЕПТОРОМ МОЗГА КРЫСЫ**

Мориц В., Эллер М., Ярв Я.

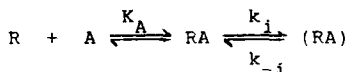
Тартуский университет, Тарту

В работе изучена кинетика связывания серии N-алкилзамещенных производных хинуклидинилбензилата,



с мускариновым рецептором коры мозга крысы. Опыты проводили с применением N-метил-[<sup>3</sup>H]скополамина в качестве лиганда- "репортера" [M.Eller et al., Organic Reactivity 25,372-386, 1988.] в среде 0.05 М К-фосфатного буфера, 25<sup>o</sup>С.

Показано, что все изученные бензиловые эфиры взаимодействуют с мускариновым рецептором по двухстадийной реакционной схеме,



образуя с рецептором быстро и медленно диссоциирующие комплексы RA и (RA), соответственно. Использованная нами методика кинетического анализа позволила определить отдельно константы K<sub>A</sub> и k<sub>1</sub>. В результате этого полученные данные открывают уникальную возможность анализа зависимости активности от строения лиганда на отдельных стадиях его взаимодействия с рецептором.

Показано, что удлинение алкильной цепочки в спиртовой части бензилового эфира практически не влияет на эффективность связывания лигандов с рецептором и на скорость "изомеризации" рецептор-лигандного комплекса. В то же время, судя по аналогичным кинетическим данным для других мускариновых антагонистов, варьирование строения спиртовой части бензиловых эфиров непосредственно у сложноэфирной группы молекулы



антагониста в значительной степени меняет как эффективность связывания лиганда, так и скорость "изомеризации" его комплекса с рецептором. Следовательно, активный центр рецептора теряет чувствительность к изменениям структуры заместителя на достаточном удалении от сложноэфирной группы сложных эфиров. Это очевидно связано с ограниченными размерами соответствующего связывающего центра на активной поверхности мускаринового рецептора.

#### МОДУЛЯЦИЯ ФОСФОРИЛОВАНИЯ СИНАПСИНА I ФОСФОИНОЗИТИДАМИ

Москвитина Е.Л., Северин С.Е., Микерин И.Е.

Научный центр молекулярной диагностики МЗ СССР, Москва

Нейроспецифический белок синапсин I (СИ) является своеобразным "якорем" синаптических везикул на элементах цитоскелета. Фосфорилирование СИ  $Ca^{2+}$ , кальмодулин-зависимой протеинкиназой II (ПК II) приводит к активации нейросекреции. Ранее нами было показано, что СИ является также эффективным субстратом для  $Ca^{2+}$ , фосфолипид-зависимой протеинкиназы (ПКС) и данные процессы фосфорилирования взаимно регулируемы: кислые фосфолипиды (активаторы ПКС) ингибировали кальмодулин ( $CaM$ )-зависимое фосфорилирование СИ, а  $CaM$  (активатор ПК II) оказывал ингибирующее действие на ПКС-опосредованное фосфорилирование СИ. Поскольку ПКС - фермент, специфически активируемый при рецептор-зависимом распаде полифосфоинозитидов, представляло интерес исследовать влияние метаболитов фосфоинозитидного обмена на процесс ПКС-зависимого фосфорилирования СИ. Оказалось, что максимальная скорость реакции фосфорилирования при использовании (ФС) практически не отличалась, а величина кажущейся константы активации ( $K_a$ ) для каждого из фосфолипидов составляла соответственно 0,6 и 1,1 мкг/мл. Фосфатидилинозит-4,5-дифосфат ( $ФИФ_2$ ) (0,5 мкг/мл), подобно диацилглицерину, увеличивал сродство фермента к ФИ до 0,2 мкг/мл. Можно предположить, что  $ФИФ_2$ , наряду с диацилглицерином, является физиологическим активатором ПКС-зависимого фосфорилирования СИ в нервных клетках. Причем, если второй будет модулировать активность ПКС при рецептор-зависимом распаде фосфоинозитидов (особенно  $ФИФ_2$ , т.к. это приводит к увеличению концентрации внутриклеточного  $Ca^{2+}$ ), то

первый, в свою очередь, будет способен активировать ПКС в отсутствие гормонального сигнала и стимул-индуцированного гидролиза фосфоинозитидов. Таким образом, регуляция нейросекреции белковым фосфорилированием осуществляется, по-видимому, за счет сложной модуляции обмена фосфоинозитидов и  $\text{Ca}^{2+}$ -связывающих белков.

### **ХАРАКТЕРИСТИКА И ФУНКЦИОНАЛЬНАЯ РОЛЬ РЕЦЕПТОРОВ К АКТГ ИММУНОКОМПЕТЕНТНЫХ КЛЕТОК**

Наволоцкая Е.В., Абрамов В.М., Исаев И.С., Завьялов В.П.

Институт иммунологии Минмедпрома, Любучаны

Известно, что рецепторам к АКТГ иммунокомпетентных клеток принадлежит важная роль в регуляции продукции и действия иммунорегулирующих цитокинов (интерлейкина-I, альфа-интерферона и т.д.). Проведенные нами эксперименты показали, что помимо АКТГ способностью к высокоаффинному связыванию с рецепторами к этому гормону на тимоцитах, спленocyтaх и макрофагах мышей обладают также пептиды, соответствующие АКТГ-подобным последовательностям иммуноглобулина GI и интерлейкина - I человека. Определены кинетические параметры специфического связывания [ $^{125}\text{I}$ ]АКТГ/13-24/ и радиоактивно меченных синтетических АКТГ-подобных пептидов иммуноглобулинового происхождения с рецепторами различных типов иммунокомпетентных клеток. Для всех указанных выше лигандов и типов клеток связывание с рецептором характеризовалось высокой специфичностью, аффинностью (диапазон значений  $K_d$  - от  $10^{-8}$  до  $10^{-9}$  М) и довольно высокой плотностью: 4000 связывающих мест в расчёте на одну клетку.

Показано, что связывание АКТГ и АКТГ-подобных пептидов с рецепторами иммунокомпетентных клеток приводит к значительному (в два-три раза) увеличению активности аденилатциклазы, следствием чего является существенное изменение функциональной активности этих клеток. Получено экспериментальное подтверждение участия рецепторов к АКТГ в таких важных иммунологических реакциях как бластная трансформация и фагоцитоз.

## ВНУТРИКЛЕТОЧНЫЕ И МЕМБРАННЫЕ РЕЦЕПТОРЫ ЭСТРАДИОЛА. УЧАСТИЕ СИСТЕМЫ cAMP В ДЕЙСТВИИ ЭСТРАДИОЛА НА КЛЕТКИ-МИШЕНИ

Нагибнева И.Н., Морозова Т.М., Сидоркина О.М.

Институт цитологии и генетики СО АН СССР, Новосибирск

В настоящее время показано, что практически все виды стероидных гормонов (прогестерон, глюкокортикоиды, альдостерон, эстрадиол), наряду с внутриклеточными рецепторами, имеют специфические рецепторы, входящие в состав плазматических мембран клеток-мишеней [Szego, 1983].

В работе установлено, что в клетках всех эстрадиол-зависимых опухолей молочных желез крыс ( $\text{Э}^+\text{ОМЖ}$ ) содержатся мембранные рецепторы эстрадиола, обладающие, как и цитозольные рецепторы, высоким сродством, избирательностью к гормону и ограниченным числом мест связывания ( $K_d = (3,9 \pm 1,0) 10^{-10}$  М;  $V_{\text{max}} = (54,3 \pm 9,3) 10^{-15}$  моль на 1 мг белка). Показано, что эстрогеннезависимость ряда ОМЖ связана с отсутствием специфического связывания гормона плазматическими мембранами.

Для определения функций рецепторов, входящих в состав плазматических мембран, было изучено действие гормона на системы вторичных посредников. Установлено, что  $\text{Э}^+\text{ОМЖ}$  и нормальной ткани матки эстрадиол с латентным периодом стимулирует аденилатциклазу и вызывает увеличение активности cAMP-зависимых протеинкиназ. Позднее в регуляцию активности этих протеинкиназ включается их термостабильный белковый ингибитор, активность которого в ядрах значительно снижается. Активация эстрадиолом системы cAMP специфична: она не наблюдается в гормоннезависимой ткани ( $\text{Э}^-\text{ОМЖ}$ ), а также под действием физиологически неактивного аналога эстрадиола - 17-альфа-эстрадиола. Наличие латентного периода свидетельствует об отсутствии сопряжения мембранных рецепторов эстрадиола с аденилатциклазой.

Полученные в лаборатории данные о быстрой (в течение сек.) активации эстрадиолом полифосфоинозитидной системы [Сидоркина и др. 1988] позволяют предположить механизм опосредованной активации аденилатциклазной системы первично стимулированной протеинкиназой С. Установлено, что активация аденилатциклазы в изолированных плазматических мембранах клеток  $\text{Э}^+\text{ОМЖ}$  происходит под действием 17-бета-эстрадиола,

форболовых эфиров-активаторов PK-C и экзогенной PK-C.

По-видимому, эстрадиол через систему cAMP регулирует и функции клеточного ядра, так как вызывает увеличение активности cAMP-зависимых протеинкиназ в ядрах клеток Э<sup>+</sup>ОМЖ. Известно, что многие сигнальные вещества регулируют транскрипцию специфических генов, стимулируя фосфорилирование факторов транскрипции (CRE-связывающий белок, TRE-связывающий белок и др.) соответствующими протеинкиназами. В работе исследуется роль cAMP-зависимых и Ca, фосфолипид-зависимых протеинкиназ в регуляции эстрадиолом экспрессии раннего гена c-fos.

### ГЕНЕТИЧЕСКИЕ ОСНОВЫ РЕГУЛЯЦИИ ГОНАДОТРОПИНАМИ АДЕНИЛАТЦИКЛАЗНОЙ СИСТЕМЫ КЛЕТОК ЛЕЙДИГА МЫШЕЙ

Осадчук А.В., Свечников К.В.

Институт цитологии и генетики СО АН СССР, Новосибирск

Изучение генетико-молекулярных механизмов действия гонадотропинов является одной из актуальных и недостаточно исследованных проблем биологии репродуктивной функции. В настоящей работе на суспензии клеток Лейдига семенников 6-ти инбредных линий мышей РТ, А/Не, С57ВL/6J, СВА/Лас, DD и УТ проведен сравнительно-генетический анализ накопления в инкубационной среде тестостерона. Уровень гормона определяли радиоиммунологическим методом. Стимуляция биосинтеза тестостерона осуществлялась путем активации различных звеньев аденилатциклазной системы: рецепторного звена - хорионическим гонадотропином, G<sub>s</sub> белка - холерным токсином, каталитической субъединицы аденилатциклазы - форсколином и, наконец, непосредственно вторичным посредником - цАМФ.

Обнаружены высокодостоверные генетические различия в содержании тестостерона в инкубационной среде при действии всех типов препаратов. У контрастных линий мышей продукция мужского полового гормона клетками Лейдига различалась в 4-10 раз. Установлена положительная генотипическая корреляционная зависимость по продукции тестостерона при стимуляции исследованных звеньев аденилатциклазной системы.

Таким образом, во-первых, генетические факторы являются важным модулятором стероидогенеза клеток Лейдига при акти-

ваций аденилатциклазной системы. Во-вторых основные обнаруженные генетические различия в молекулярных механизмах его регуляции локализованы, по-видимому, в биохимических стадиях, следующих за образованием цАМФ.

## РЕГУЛЯЦИЯ ЭЙКОЗАНОИДАМИ ПЛАСТИЧНОСТИ ХОЛИНОРЕЦЕПТОРОВ НЕЙРОНА

Пивоваров А.С., Дроздова Е.И., Котляр Б.И.

Московский государственный университет

Известно, что  $M_1$  мускариновые холинорецепторы усиливают гидролиз фосфоинозитидов, приводящий к образованию наряду с другими соединениями арахидоновой кислоты. Некоторые ее производные (эйкозаноиды) выполняют функцию вторичных посредников, а ее гидроперекиси (продукты липоксигеназного окисления) активируют гуанилатциклазу. Это объясняет интерес к эйкозаноидам как возможным регуляторам функций клетки. В данной работе исследовали роль арахидоновой кислоты и ее производных в регуляции пластичности холинорецепторов идентифицированных нейронов ППаз и ЛПаз виноградной улитки.

С помощью метода двухэлектродной фиксации потенциала на мембране регистрировали входящие токи, вызванные локальными ионофоретическими аппликациями ацетилхолина (АХ-токи). Пластичность холинорецепторов оценивали по угашению АХ-тока, имитирующему поведенческое привыкание, в процессе серии ритмических аппликаций ацетилхолина на сому.

Внеклеточное воздействие арахидоновой кислоты (50-80 мкМ) усиливало угашение АХ-тока. Блокатор фосфолипазы  $A_2$  хинакрин (200-600 мкМ), снижающий содержание арахидоновой кислоты в клетке, действовал неоднозначно на разных нейронах, но преобладал эффект ослабления угашения. Ингибитор липоксигеназного окисления арахидоновой кислоты нордигидрогваяретовая кислота (3-10 мкМ) ослабляла угашение, а блокатор циклоксигеназного окисления индометацин (20-50 мкМ) не влиял на угашение. Полученные результаты позволяют предположить, что арахидоновая кислота и ее липоксигеназные производные однонаправленно регулируют пластичность холинорецепторов нейронов виноградной улитки, приводя к ее усилению. Циклоксигеназные эйкозаноиды регулирующего воздействия на пластичность холинорецепторов не оказывают.

**САЙТ СВЯЗЫВАНИЯ ГЛЮКОКОРТИКОИД-РЕЦЕПТОРНЫХ КОМПЛЕКСОВ В  
5'-ФЛАНКИРУЮЩЕМ РАЙОНЕ ГЕНА МЕТАЛЛОТИОНЕИНА I МЫШИ. ВЛИЯНИЕ  
НУКЛЕОТИДНЫХ ЗАМЕН НА ЭФФЕКТИВНОСТЬ СВЯЗЫВАНИЯ РЕЦЕПТОРА И НА  
ЭКСПРЕССИЮ МАРКЕРНОГО ГЕНА**

Плисов С.Ю., Селедцов И.А., Меркулова Т.И.

Институт цитологии и генетики СО АН СССР, Новосибирск

Глюкокортикоиды, проникая в клетки-мишени, образуют комплексы с белками-рецепторами (ГлРК), которые узнают определённые сайты ДНК вблизи регулируемых ими генов.

В данной работе обнаружен сайт связывания ГлРК в 5'-фланкирующем районе гена металлотioneина I мыши, который содержит аналог общепринятого консенсуса сайта связывания ГлРК G-ACA---TGTTCT, которого, как полагают, достаточно для узнавания ГлРК и для индукции глюкокортикоид-зависимых генов (Beato M. и соавт.) Нами показано, что транзиции всех оснований в окружении этого консенсуса приводят к существенному уменьшению ГлРК-связывающей способности этого участка ДНК, что указывает на важную роль окружения консенсуса G-ACA-TGTTCT в образовании прочного комплекса ГлРК-ДНК.

Проведённый нами компьютерный анализ 57 экспериментально выявленных ранее сайтов связывания ГлРК выявил дополнительные консервативные позиции в окружении общепринятого консенсуса, некоторые из которых по консервативности не уступают основным его элементам.

Проведено исследование влияния различных фрагментов ДНК, несущих как приводные сайты связывания ГлРК, так и их искусственные модификации, на индукцию экспрессии маркерного гена хлорамфениколацетилтрансферазы глюкокортикоидами в клетке.

**ВЛИЯНИЕ АДЕНОЗИНА НА ДЕЙСТВИЕ НЕКОТОРЫХ ФИЗИОЛОГИЧЕСКИХ  
ЭФФЕКТОРОВ АКТИВАЦИИ ТРОМБОЦИТОВ ЧЕЛОВЕКА**

Прокудин В.Ю., Породенко Н.В.

Научный центр молекулярной диагностики МЗ СССР, Москва

Регуляция процессов агрегации тромбоцитов низкомолекулярными факторами опосредуется через их взаимодействие с высокоспецифическими рецепторами на поверхности клеток. В работе проведено сравнительное изучение изменения агрегиру-

юшей способности тромбоцитов при активации их физиологическими лигандами в присутствии аденозина. В качестве активирующих соединений использовали АДФ, серотонин и фактор активации тромбоцитов (ФАТ). Формирование клеточного ответа регистрировали по изменению светопропускания через обогащенную тромбоцитами плазму с помощью агрегометра "Elvi 840" (Италия). Установлено, что аденозин оказывает ингибирующий дозозависимый эффект на процесс агрегации тромбоцитов при активации их данными агонистами. Наиболее значительное угнетение функционального ответа тромбоцитов в присутствии аденозина было зарегистрировано при активации клеток ФАТ. Нуклеозид в концентрации 10 мкМ практически полностью блокировал способность клеток реагировать на воздействие данного лиганда. Ингибирование агрегации тромбоцитов при активации их АДФ не приводило к полному угнетению клеточного ответа. Влияние аденозина на серотонин-зависимую активацию тромбоцитов выражалось в снижении начальной скорости взаимодействия клеток, однако процесс агрегации принимал необратимый характер, хотя и был низкоамплитудным. Обсуждается особая физиологическая роль аденозина в модуляции рецептор-опосредованного действия ФАТ на тромбоциты.

#### **БАНК КОНСТАНТ СВЯЗЫВАНИЯ ЛИГАНДОВ С МУСКАРИНОВЫМ РЕЦЕПТОРОМ**

Ринкен А.А.

Тартуский университет, Тарту

Создан банк констант диссоциации комплексов лигандов с мускариновым холинорецептором, измеренных методом радиолигандного анализа. Банк включает в себя более 7000 констант, опубликованных до 1988 года для более чем 400 разных лигандов. Банк создан для ЭВМ IBM PC XT/AT и базируется на программе FoxBase Plus 1.21.

Банк допускает автоматический выбор констант диссоциации исходя из строения лиганда, изучаемой ткани, используемого буфера, температуры, а также исходя из интервала величины константы. Поиск данных можно провести также по первому автору статьи или года публикации работы. Выбранные в результате поиска константы печатаются на принтере с приведением всех характеристик и с полной ссылкой на литературный

источник. Таким образом легко сравнить константы, которые были определены для разных лигандов, а также характеризовать влияние какого-то фактора на константы диссоциации одного лиганда.

## **СОВРЕМЕННЫЕ ПРЕДСТАВЛЕНИЯ О СТРУКТУРЕ И ФУНКЦИЯХ ГОРМОНАЛЬНЫХ РЕЦЕПТОРОВ, РЕГУЛИРУЮЩИХ ГЕННУЮ ЭКСПРЕССИЮ**

Розен В.Б.

Московский государственный университет

В настоящее время широко изучается биохимия суперсемейства внутриклеточных рецепторов (Р), избирательно связывающих микромолекулярные гормоны и специфически контролирующих генную экспрессию. Членами этого семейства являются Р различных стероидных гормонов (эстрогенов, андрогенов, прогестинов, глюко- и минералокортикоидов, диоксивитамина Д), тиреоидных гормонов и ретиноевой кислоты. Р данного суперсемейства объединяют: преимущественно ядерная локализация; резкое повышение их сродства к ДНК после ассоциации с соответствующими лигандами; способность специфически взаимодействовать с гормончувствительными элементами (ГЧЭ) определённых генов и контролировать их транскрипционную пептидных молекул. Все эти Р - линейные пептиды (50-110 кДа), имеющие принципиально общую доменную структуру. Два главных дискретных домена - ДНК-связывающий (С) и гормон-связывающий (Е). Фрагмент С, расположенный, как правило, в середине молекулы, характеризуется наиболее высокой степенью гомологии как в однотипных Р разных видов животных (до 99,5%), так и в Р разных представителей семейства (до 80%). Этот домен, как предполагают, за счёт 8-и консервативных остатков Цис и при участии 2-х атомов цинка универсально формирует "двухпальцевую" структуру, обеспечивающую взаимодействие Р с ДНК. Фрагмент Е, локализованный в С-терминальной области разных Р, также обладает высокой степенью гомологии и образует гидрофобный центр специфического связывания гормонов. Эксперименты с гибридизацией С и Е из Р разного типа установили, что векторность эффекта гормона целиком обеспечивает С, а комплекс Е с гормоном - лишь усилитель эффекта. В процессе



связывания Р с ГЧЭ генома имеют место кооперативные взаимодействия, возникающие за счёт олигомеризации Р-гормональных комплексов и множественности ГЧЭ. Эти взаимодействия приводят к резкому повышению чувствительности соответствующих генов к гормональному сигналу.

Р данного суперсемейства опосредуют детерминирующие и регуляторные эффекты соответствующих гормонов на процессы роста, дифференцировки и адаптации.

### **РЕЦЕПТОРЫ ПОЛОВЫХ СТЕРОИДОВ И ДЕТЕРМИНАЦИЯ ПОЛОВОЙ ДИФФЕРЕНЦИРОВКИ В ГЕПАТОЦИТАХ**

Розен В.Б., Смирнова О.В., Смирнов А.Н., Матарадзе Г.Д.,  
Вишнякова Т.Г.

Московский государственный университет

Нами и другими группами авторов в клетках печени выявлены, очишены и идентифицированы рецепторы эстрогенов (РЭ) и рецепторы андрогенов (РА). По своим молекулярным, гормонсвязывающим и иным физико-химическим характеристикам, а также по способности в комплексе с соответствующими лигандами взаимодействовать с ДНК и аккумулироваться в клеточном ядре, выявленные рецепторы печени весьма сходны с РЭ и РА таких классических органов-мишеней для половых стероидов, как матка и простата. Показано, что ряд специфических регуляторных эффектов эстрогенов (Э) и андрогенов (А) на печень в высокой степени положительно ( $r > 0,90$ ) коррелирует с концентрацией РЭ и РА в гепатоцитах соответственно. Очевидно, эти рецепторы обуславливают выявленную нами в исследованиях на животных и с культурой гепатоцитов способность половых стероидов оказывать в физиологических концентрациях регуляторное дозозависимое влияние непосредственно на клетки печени. Прямые регуляторные эффекты Э и А на гепатоциты могут в той или иной степени формировать половую дифференцировку ряда печёночных функций. Эти эффекты целиком определяют ползависимость концентрации самих РЭ и РА в клетках печени. Наряду с регуляторными (обратимыми) эффектами А могут оказывать и прямое детерминирующее (необратимое) действие на некоторые ползависимые функции гепатоцитов. Детерминированный ползависимый признак в печёночных клетках устойчиво экспрессируется в организме

после устранения А, полностью передаётся потомству пролиферирующих клеток в процессе регенерации печени, продолжает стабильно проявляться в первичной культуре гепатоцитов и может вместе с тем в этой культуре первично индуцироваться А. Детерминирующий эффект А требует для своей реализации перmissive влияния гипофизарного СТГ. Установлено, что для осуществления различных эффектов половых гормонов на гепатоциты необходима интактность аппарата синтеза белка. В докладе обсуждаются возможные механизмы регуляторного и детерминирующего действия А и Э на клетки печени.

#### **ИСПОЛЬЗОВАНИЕ ГЛУТАМАТСВЯЗЫВАЮЩЕГО МЕМБРАННОГО БЕЛКА, ВЫДЕЛЕННОГО ИЗ ГОЛОВНОГО МОЗГА ЧЕЛОВЕКА, ДЛЯ ИММУНОДИАГНОСТИКИ СУДОРОЖНЫХ СОСТОЯНИИ**

Савинов А.Ю., Городинский А.И., Демина М.Н., Дамбинова С.А.

Институт экспериментальной медицины АМН СССР, Ленинград

Рецепторы глутаминовой кислоты, одного из важнейших возбуждающих нейромедиаторов головного мозга, участвуют в формировании пароксизмального судорожного синдрома при различной неврологической патологии. Очищенный глутаматсвязывающий мембранный белок (ГМБ) может служить в качестве специфического маркера возбуждающих путей, в частности, при их вовлечении в иммунопатологические процессы, происходящие в ЦНС, и, возможно, влияющие на уровень активации систем мозга.

Как было показано нами ранее, в сыворотке больных эпилепсией уровень аутоантител (аАТ) к ГМБ, выделенному из головного мозга, значительно повышен по сравнению с контролем. В настоящей работе исследовалась диагностическая ценность анализа образцов сыворотки крови больных эпилепсией и другими заболеваниями ЦНС, проводимого с применением в качестве антигенов ГМБ и тотального сольбилизата (ТС) синаптических мембран, выделенных из головного мозга.

Обследовано 84 пациента с диагнозами: эпилепсия (51 человек), паркинсонизм (10), эпилептиформные судороги неясной этиологии (10), прочие неврологические заболевания (болезнь Альцгеймера, травматические поражения и опухоли головного мозга - 13 человек) и 29 доноров, не страдавших неврологическими заболеваниями.

Повышение уровня содержания аАТ к ГМБ в сыворотке крови более чем на 50 % по сравнению с донорской группой было обнаружено в основном у больных эпилепсией (64%) и эпилептиформным синдромом (90%). аАТ к ТС обнаруживались в сыворотке крови больных эпилепсией (47%) и эпилептиформным синдромом (70%). Следует отметить отсутствие выраженной корреляции между уровнями аАТ к ГМБ и ТС ( $r=0.43$ ). У больных паркинсонизмом и другими неврологическими заболеваниями уровень аАТ к ГМБ и ТС практически не отличался от контрольных значений. Зависимость уровня повышения аАТ к ГМБ и ТС от динамики течения эпилепсии и конкретных форм заболевания подлежит выяснению.

### **СУБКЛЕТОЧНОЕ РАСПРЕДЕЛЕНИЕ СИГМА-РЕЦЕПТОРОВ В ПЕЧЕНИ КРЫС**

Самовилова Н.Н., Виноградов В.А.

Научный центр молекулярной диагностики МЗ СССР, Москва

К настоящему времени сигма-рецепторы обнаружены в ЦНС, иммунной системе и печени. В связи с отсутствием литературных данных по субклеточной локализации этих рецепторов проведено изучение субклеточного распределения сигма-рецепторов в печени крыс.

С помощью ультрацентрифугирования получали четыре субклеточные фракции: ядерную, митохондриальную, микросомальную и плазматических мембран. В каждой фракции определяли величину связывания с селективным лигандом сигма-рецепторов (+)-[<sup>3</sup>H]SKF 10047, содержание ДНК (маркер ядер), активность лейцинаминопептидазы (маркер плазматических мембран), глутаматдегидрогеназы (маркер митохондрий) и НАДФН-цитохром с-редуктазы (маркер микросом). В качестве референса использовали общий гомогенат печени.

Обнаружена прямая корреляция величины связывания меченого лиганда сигма-рецепторов с активностью микросомального фермента НАДФН-цитохром с редуктазы. Делается вывод о том, что в печени крыс центры связывания (+)-[<sup>3</sup>H]SKF 10047 локализованы в микросомах.

**ТИРОКСИНСВЯЗЫВАЮЩИЙ ИММУНОГЛОБУЛИН М ЧЕЛОВЕКА КАК ВОЗМОЖНЫЙ  
МОДУЛЯТОР РЕЦЕПЦИИ ТИРЕОИДНЫХ ГОРМОНОВ**

Свиридов О.В., Ермоленко М.Н., Карпыза Е.И., Киселева Э.Э.,  
Стрельченко О.А.

Институт биоорганической химии АН БССР, Минск

Аффинная матрица, содержащая иммобилизованный L-тироксин, биоспецифически адсорбировала из нормальной и ретроплацентарной сыворотки крови человека смесь белков, проявляющих сродство к тиреоидным гормонам. Один из этих белков на основании данных по молекулярной массе, субъединичному строению и иммунохимическим свойствам был идентифицирован как иммуноглобулин М.

Очищенный IgM взаимодействовал с L-тироксинами в растворе с  $K_a = 10^6 \text{ M}^{-1}$ , а связывание [ $^{125}\text{I}$ ]тироксина зависело от pH среды и условий предварительной тепловой обработки белка. Ингибирующее действие тиреоидных гормонов и их структурных аналогов на связывание [ $^{125}\text{I}$ ]тироксина с IgM уменьшалось в следующем ряду: L-тироксин > 3,3,5-триод-L-тиронин > 3,3,5-триодтироуксусная кислота > 3,3,5-триодтиропропионовая кислота > 3,5-дидод-L-тиронин.

Установлено, что тироксинсвязывающий иммуноглобулин М в зависимости от его концентрации в системе *in vitro* способен оказывать стимулирующее или ингибирующее действие на специфическое связывание триодтиронина и тироксина с лимфоцитами и плазматическими мембранами синцитиотрофобласта плаценты человека. Так, при эквимольном соотношении белок/гормон в системе связывание триодтиронина с везикулярной фракцией мембран возрастало на 60%, а связывание тироксина ингибировалось почти на 100%. При увеличении соотношения IgM/гормон до 10:1 рецепция триодтиронина снижалась на 30%, а связывание тироксина, наоборот, увеличивалось на 75%. Аналогичные результаты были получены и в экспериментах с лимфоцитами человека.

Показано, что [ $^{125}\text{I}$ ]IgM способен специфически связываться с мембранами синцитиотрофобласта. Анализ экспериментальных данных по Скэтчарду выявил наличие двух типов мембранных участков связывания с  $K_a = 10^9$  и  $10^7 \text{ M}^{-1}$ . Введение в систему эквимольного по белку количества триодтиронина

увеличивало связывание IgM с мембранами на 40%. Обсуждаются возможные механизмы связывания IgM с мембранами синцитиотрофобласта и его регулирующего действия на рецепцию тиреоидных гормонов.

#### **ВЛИЯНИЕ АЛЬДОСТЕРОНА НА РАБОТУ АДЕНИЛАТЦИКЛАЗНОЙ СИСТЕМЫ ПЛАЗМАЛЕММЫ ГЛАДКОМЫШЕЧНЫХ КЛЕТОК АОРТЫ КРЫС РАЗНОГО ВОЗРАСТА**

Селявко В.В., Милютин А.А.

Институт радиобиологии АН БССР, Минск

Одной из особенностей старения сердечно-сосудистой системы является то, что возрастные изменения претерпевают не столько показатели гемодинамики, сколько эффекты действия биологически активных веществ на тонус сосудов и его центральная регуляция. Тем не менее, нет единого мнения о молекулярных механизмах возрастных сдвигов гормончувствительности гладкомышечных клеток сосудов.

Исходя из сказанного, исследовалось функциональное состояние аденилатциклазной системы плазматических мембран клеток сосудов, а также модулирующее влияние минералокортикоида альдостерона, участвующего в регуляции сосудистого тонуса.

С помощью радиолигандного метода, используя бета-адреноантагонист [<sup>3</sup>H]дигидроалprenолол, установлено, что с возрастом количество бета-адренорецепторов на плазмалемме гладкомышечных клеток аорты увеличивается при одновременном уменьшении их сродства к лиганду. Альдостерон оказывал влияния на измеряемое количество и сродство рецепторов к антагонисту как у зрелых (12 мес.), так и у старых (26 мес.) животных. Базальная активность аденилатциклазы плазмалеммы гладкомышечных клеток не претерпевала возрастных изменений. Отмеченное возрастное увеличение количества рецепторов не сопровождалось увеличением активации аденилатциклазы бета-агонистом изопротеренолом, нивелируя её возрастные различия. ГТФ и ионы фтора вызывали одинаковую стимуляцию аденилатциклазной активности независимо от возраста.

На основании полученных результатов предполагается, что в процессе старения в гладкомышечных клетках сосудов происходит нарушение сопряжения на уровне бета-адренорецептор - N-

белок, которое может быть восстановлено посредством модулирующего влияния альдостерона.

## **ПРИНЦИПЫ БИОЛОГИЧЕСКОГО УЗНАВАНИЯ ФИЗИОЛОГИЧЕСКИ АКТИВНЫХ ВЕЩЕСТВ**

Сергеев П.В., Шимановский Н.Л.

2-й Московский медицинский институт

Рассмотрены биохимические принципы функционирования "узнающих систем" физиологически активных веществ, расположенных на поверхности и внутри клеток-мишеней. Приведены сведения о сопряжении "узнающих систем" с трансдукторами и эффекторами с привлечением данных о топографии рецепторов и межрецепторных взаимоотношениях. На примерах гомо- и гетероспецифической регуляции рецепторов показаны принципиально новые возможности фармакотерапии тех или иных заболеваний.

Проанализированы возможные пути участия рецепторных систем в клеточной коммуникации и формировании общего ответа органов и тканей на молекулярный сигнал.

Обсуждаются перспективы использования методов молекулярной биологии (рекомбинация ДНК, перекрестная гибридизация, выделение генов рецепторов) и иммунологии (моноклональные антитела) для расшифровки первичной структуры рецепторов, что необходимо для выяснения неодинаковой чувствительности клеток разных и тканей к одним и тем же лигандам. Делается вывод, что биологическое узнавание является методологической основой для поиска и создания избирательно действующих физиологически активных веществ.

## **ХАРАКТЕРИСТИКА ОПИОИДНЫХ РЕЦЕПТОРОВ НА КЛЕТКАХ КРОВИ И РОЛЬ МОРФИНА КАК ИММУНОМОДУЛЯТОРА**

Сергеева М.Г., Лещенко З.В., Варфоломеев С.Д.

Московский государственный университет

Эндогенные опиоидные пептиды принимают активное участие в регуляции функций иммунной системы через взаимодействие со специфическими рецепторами. Морфин – экзогенный опиоид, вызывающий при длительном введении физическую зависимость. Роль морфина как иммуномодулятора интенсивно изучается.

Нами исследовано взаимодействие опиоидных лигандов:

$d\text{-Ala}^2, N\text{-Me-Phe}^5\text{Gly}$   $\omega$ 1-энкефалина (DAGO) - специфического мю-лиганда на рецепторах ЦНС,  $d\text{-Ala}^2\text{-d-Leu}^5$  -энкефалина (DADLE) -специфического дельта-лиганда на рецепторах ЦНС, морфина, налуксона с мембранами клеток тромбоцитов, мононуклеаров (лимфоциты и моноциты), полиморфоядерных лейкоцитах (ПМЛ) периферической крови человека (ПКЧ). Связывание изучали в 50 мМ Трис-HCl pH 7,4 при различных температурах. Показано, что DAGO и DADLE не связываются с мембранами клеток крови. В отличие от этого морфин и налуксон связываются с мембранами тромбоцитов, мононуклеаров и ПМЛ при температурах 4°, 25°, 37°C. Изотермы комплексообразования морфина и налуксона имеют "лаг период" в диапазоне концентраций 0,1-2 нМ, а в диапазоне 2-200 нМ изотерма линейризуется в координатах Скэтчарда ( $K_d=8-12$  нМ,  $V_{max}=0,012$  пмоль/мг белка).

Исследовано влияние морфина на кинетику пролиферации мононуклеаров из ПКЧ при действии митогена фитогемагглютинаина (ФГА). Степень пролиферации оценивали по включению [<sup>3</sup>H]тимидина. Морфин ингибирует пролиферацию, причем эффект развивается на 3-5 день инкубации клеток с лигандом. Показано отсутствие корреляции между концентрацией морфина и эффектом ингибирования, что свидетельствует о триггерном механизме участия морфина в иммуносупрессии.

### **ЭСТРАДИОЛ АКТИВИРУЕТ ТРАНСМЕМБРАННУЮ ФОСФАТИДИЛИНОЗИТНУЮ СИСТЕМУ ВТОРИЧНЫХ ПОСРЕДНИКОВ В КЛЕТКАХ-МИШЕНЯХ**

Сидоркина О.М., Рау В.А., Морозова Т.М.

Институт цитологии и генетики СО АН СССР, Новосибирск

В настоящее время установлено, что рецепторы стероидных гормонов находятся не только в цитозоле, ядрах, но и плазматических мембранах клеток-мишеней. Так, в нашей и других лабораториях были обнаружены мембранные рецепторы эстрадиола. (Pietras, Szego, 1977; Морозова и др., 1983)

Мы предположили, что, подобно большинству сигнальных веществ, стероидные гормоны взаимодействуют с рецепторами в плазматических мембранах и активируют сопряжённые с ними системы вторичных посредников.

Известно, что пептидные факторы роста опосредуют своё действие на пролиферацию клеток-мишеней, стимулируя трансмем-

бранную фосфатидилинозитную систему. Можно было допустить, что стероидный гормон эстрадиол, активирующий пролиферацию клеток матки, молочных желёз, некоторых опухолей молочных желёз, взаимодействуя с рецепторами в составе плазматических мембран клеток-мишеней, также активирует трансмембранную фосфатидилинозитную систему вторичных посредников.

Проверка этой гипотезы явилась целью исследований.

В работе впервые установлено, что при взаимодействии с клетками-мишенями эстрадиол специфически стимулирует диацилглицерин-активируемую,  $Ca^{2+}$ , фосфолипид-зависимую протеинкиназу С: только в тканях-мишенях происходит транслокация её из цитозоля во фракцию клеточных мембран. Транслокация протеинкиназы С во фракцию клеточных мембран связана с активацией фермента: возрастает фосфорилирование мембранных белков, активируется аденилатциклаза, позднее наблюдается образование М-киназы - продукта протеолиза протеинкиназы С. Активация эстрадиолом протеинкиназы С не обусловлена непосредственным взаимодействием гормона с ферментом: в отличие от флорболового эфира-промотора опухолевого роста (ТРА) эстрадиол-17-бета, как и его физиологически неактивный аналог эстрадиол-17-альфа, не связывался с изолированной протеинкиназой С и не активировал её. Получены предварительные результаты стимулирующего действия эстрадиола на гидролиз фосфатидилинозитол 4,5-дифосфата в гормончувствительных клетках MCF-7.

Развивается представление о том, что действие эстрадиола на клетки-мишени начинается с плазматической мембраны, опосредуется трансмембранной фосфатидилинозитной системой вторичных посредников, реализуется с участием протеинкиназы С, фосфорилирующей белки-субстраты в разных компартментах клетки. Обсуждается механизм активации фосфатидилинозитной системы под действием эстрадиола, роль трансмембранных систем посредников в функционировании внутриклеточных стероид-рецепторных комплексов и регуляции транскрипции гормончувствительных генов.



## КЛЕТОЧНЫЕ БЕЛКИ СТЕРОМОДУЛИНЫ – РЕГУЛЯТОРЫ РЕЦЕПЦИИ И МЕТАБОЛИЗМА СТЕРОИДНЫХ ГОРМОНОВ

Смирнов А.Н., Шелкунова Т.А.

Московский Государственный университет

В ряде тканей обнаружены стероидсвязывающие белки с неизвестными функциями. Проведенные нами исследования по характеристике некоторых из этих белков – особого эстрогенсвязывающего белка (ОЭСБ) печени самцов крыс, ОЭСБ-подобных белков печени морской свинки и кролика, эстрогенсвязывающих белков поджелудочной железы и яичников крысы – выявили ряд общих для них свойств, важнейшими из которых являются умеренное сродство к стероидным лигандам ( $K_a \sim 10^7$ – $10^8 \text{ M}^{-1}$ ), высокая связывающая емкость и высокая скорость процессов ассоциации и диссоциации с гормонами. На примере ОЭСБ печени крысы продемонстрировано, что такие белки способны модифицировать рецепцию и метаболизм своих лигандов, выполняя роль лабильных депо гормонов и перераспределителей их потоков в направлении рецепции и метаболизма. В связи с этим белки данной группы были названы стеромодулинами. Анализ тканевой распространенности стеромодулинов позволяет разделить белки этой группы на две подгруппы: органоспецифические и органонеспецифические. В плане спектра лигандов, взаимодействующих со стеромодулинами, эти белки могут быть разделены на моно- и полиспецифические. На примере ОЭСБ печени крысы и его аналога из печени кролика продемонстрировано, что полиспецифичность может быть результатом: 1) наличия в структуре белка по меньшей мере двух взаимодействующих между собой посадочных места для стероидов;

2) избыточности функциональных групп белка, способных принимать участие в комплексообразовании со стероидом;

3) альтернативной ориентации лиганда в связывающем участке белка.

Стеромодулиновая функция белков рассматриваемой группы не исключает у этих белков иных типов активности. В частности, у ОЭСБ-подобного белка печени кролика, в отличие от ОЭСБ печени крысы, нами обнаружена оксистероиддегидрогеназная активность. Обнаруженные особенности организации стероидсвязывающих центров стеромодулинов в определенной мере могут

быть присущи и рецепторам стероидных гормонов.

### **ИЗМЕНЕНИЯ РЕЦЕПТОРА ВАЗОПРЕССИНА И СИСТЕМЫ ЕГО ВТОРИЧНОГО ПОСРЕДНИКА В ОНТОГЕНЕЗЕ ПОЧКИ**

Соленов Е.И., Зеленина М.Н., Иванова Л.Н.

Институт цитологии и генетики СО АН СССР, Новосибирск

Согласно современным представлениям антидиуретический эффект вазопрессина реализуется эпителием собирательных трубок и опосредуется рецепторами сопряженными с вазопрессин-зависимой аденилатциклазой и сАМР-зависимыми протеинкиназами внутри клетки. В настоящей работе мы исследовали изменения рецептора вазопрессина в мембранной фракции медуллярной части почки крыс и мышей в двух возрастных периодах - в начале вининга, когда почка нечувствительна к вазопрессину и во взрослом состоянии, когда почка обладает полной гормональной компетентностью. Исследования рецептора вазопрессина показали, что в онтогенезе происходит образование полисубъединичного рецептора размером ок. 400 кДа из субъединиц размером ок. 40 кДа. Получены данные, указывающие на существование (+)кооперативного связывания вазопрессина в незрелом рецепторе. Показано существенное возрастание ГТФ-азной активности фракции мембран в онтогенезе и, в частности, вазопрессин-зависимой ГТФ-азной активности, обнаруживаемой только в зрелой почке. Во фракции мембран обнаружили ГТФ-связывающий белок, связывающая активность которого снижалась по мере развития почечной функции. Показали сложную возрастную динамику изменения сАМР-зависимой протеинкиназной активности в цитозоле медуллярной части почки - этот показатель имел минимум в возрасте 15 дней и максимум в возрасте 25 дней. Показали, что в процессе созревания почки происходит смена типов сАМР-зависимых протеинкиназ и возрастает способность ферментов к диссоциации при действии сАМР. На основании полученных данных высказываются предположения о значении исследованных молекулярных механизмов для развития гормональной компетентности почки по отношению к вазопрессину.

## ОСОБЕННОСТИ МЕХАНИЗМА РЕЦЕПТОРНОГО ВЗАИМОДЕЙСТВИЯ РАЗНЫХ ФОРМ ИНСУЛИНА И ИНСУЛИНОВЫХ РОСТОВЫХ ФАКТОРОВ

Старосельцева Л.К., Князева А.П., Беловалова И.М.,  
Гамбурцева Т.Д., Васильева И.В.

Всесоюзный эндокринологический научный центр АМН СССР, Москва.

Несмотря на большое число работ, посвященных изучению рецепции инсулина, до настоящего времени окончательно не выяснены механизмы инсулин-рецепторного взаимодействия. В последние годы вновь усилился интерес к изучению этого вопроса в связи с появлением новых данных об инсулиноподобных веществах, инсулиновых ростовых факторах, о роли протеинкиназ в действии рецепторного комплекса, а также появление новых представлений о доменной структуре рецепторов, сверхмолекулярных комплексах, в которых имеют место регуляторные модуляции, т.е. рецептор-рецепторные взаимодействия, где активация одного рецептора может регулировать поведение другого рецептора. В связи с этим представляло интерес исследование вопроса о возможном взаимодействии проинсулина, связанной формы инсулина и инсулиноподобных веществ с рецепторами инсулина, а также изучение различия в механизме рецепторного связывания на разных клетках и тканях.

В докладе рассматриваются данные, полученные при изучении рецепторного связывания различных форм инсулина, проинсулина и инсулиновых ростовых факторов на изолированных жировых клетках, эритроцитах, на ткани инсулиномы и лимфоцитах. Инсулин-рецепторное взаимодействие изучалось при различных концентрациях инсулина при конкурентном вытеснении проинсулином и другими инсулиноподобными веществами.

Ответ клетки на рецепторный сигнал определялся по изучению некоторых параметров внутриклеточного метаболизма, таких как определение триглицеридов, включение [ $^{14}\text{C}$ ]-глюкозы в общие липиды клетки жировой ткани, по активности лигазы и уровню триглицеридов.

Полученные параметры рецепторного связывания инсулина и его форм сопоставлялись с характером секреции иммунореактивного инсулина, проинсулина и инсулиновых ростовых факторов, а также со степенью функциональной активности островкового аппарата поджелудочной железы, так как изменение в составе

секретируемого инсулина может определять характер инсулин-рецепторного взаимодействия.

#### **АДГЕЗИВНЫЕ РЕЦЕПТОРЫ – РЕГУЛЯТОРЫ РЕСПИРАТОРНОГО ВЗРЫВА В НЕЙТРОФИЛАХ**

Судбина Г.Ф., Татаринцев А.В., Кошкин А.А.

Московский государственный университет

С целью выяснения взаимосвязи адгезивных взаимодействий и реакций образования активных форм кислорода исследовалось действие блокаторов адгезивных взаимодействий – RGD и аджоина (физиологически активного вещества, выделенного из экстракта чеснока), а также антител к фибронектину и экзогенно добавленного фибронектина (Fn) на респираторный взрыв в нейтрофилах, индуцированный различными стимулами.

Эксперименты проводились на нейтрофилах, выделенных из свежееотобранной донорской крови. Уровень активности нейтрофилов в реакции респираторного взрыва определяли путем измерения люминол- и люцигенин-усиленной хемилюминесценции на приборе LKB Model 1251.

В присутствии RGD наблюдалось ингибирование люминол-зависимой хемилюминесценции, индуцированной fMLP, усиливающееся с ростом концентрации добавленного в среду трипептида. При внесении аджоина в инкубационную смесь ингибировались реакции респираторного взрыва в нейтрофилах, индуцированные fMLP, арахидоновой кислотой, кальциевым ионофором A23187 и конканавалином А. Образование активных форм кислорода также прекращалось, если аджоин добавляли после добавления стимула.

При действии антител к Fn на респираторный взрыв в нейтрофилах скорость образования активных кислородных метаболитов снижалась с повышением в инкубационной смеси концентрации антител. Ингибирующее действие антител снималось при добавлении в инкубационную среду Fn. Добавление фибриногена или альбумина не снимало ингибирующего действия антител.

Полученные результаты говорят о том, что состояние адгезивных рецепторов на нейтрофилах играет существенную роль в механизме запуска реакций респираторного взрыва и о непосредственном участии интегринов и белков внеклеточного матрикса в процессе активации и регуляции респираторного

взрыва в нейтрофилах.

### ВЗАИМОСВЯЗЬ МЕЖДУ СИСТЕМАМИ ВТОРИЧНЫХ ПОСРЕДНИКОВ В ТРОМБОЦИТАХ И ЭНДОТЕЛИАЛЬНЫХ КЛЕТКАХ ЧЕЛОВЕКА

Ткачук В.А., Войно-Ясенецкая Т.А., Авдонин П.В., Григорян Г.Ю.

Всесоюзный кардиологический научный центр АМН СССР, Москва

С помощью флуоресцентных зондов квин-2 и фура-2 показано существование в тромбоцитах человека рецептор-управляемых каналов (РУК) для ионов  $Ca^{2+}$ ,  $Ba^{2+}$ ,  $Mn^{2+}$ ,  $Li^+$ ,  $Na^+$ . РУК, активируемые фактором активации тромбоцитов (ФАТ), гистамином, брадикинином и тромбином, обладали рядом общих свойств. Агонист-индуцированное повышение концентрации цитоплазматического  $Ca^{2+}$  в тромбоцитах происходило как за счет входа внеклеточного  $Ca^{2+}$ , так и за счет выброса  $Ca^{2+}$  из внутриклеточных депо. Кальциевые антагонисты верапамил и никардинпин ингибировали повышение концентрации цитоплазматического  $Ca^{2+}$ , вызванное агонистами. Протеинкиназа С и цАМФ-зависимая протеинкиназа блокировали РУК в тромбоцитах. Под действием активаторов тромбоцитов развивалась также деполяризация мембраны, как было показано с помощью флуоресцентного потенциалзависимого зонда дис- $C_3(5)$ . Рецептор-зависимая деполяризация мембран, вызываемая входом ионов  $Ca^{2+}$ ,  $Ba^{2+}$ ,  $Na^+$ ,  $Li^+$ ,  $Cs^+$ , блокировалось протеинкиназой С и цАМФ-зависимой протеинкиназой. В присутствии  $Ca^{2+}$   $NaF$  потенцировал агонист-зависимое повышение  $Ca^{2+}$  в тромбоцитах, что указывает на вовлечение в активацию РУК G белка. Протеинкиназа С тормозила GТфазную активность, сопряженного с РУК G белка.

В эндотелии пупочной вены человека  $Ca^{2+}$ -мобилизующие агонисты тромбин, гистамин, ФАТ и брадикинин стимулировали фосфоинозитидный (ФИ) обмен. Гистамин-зависимая стимуляция ФИ обмена сопровождалась стимулированием синтеза тромбоксана и простаглицлина этими клетками. Гистамин вызывал повышение концентрации внутриклеточного  $Ca^{2+}$  в эндотелии как за счет мобилизации  $Ca^{2+}$  из внутриклеточных депо, так и за счет входа внеклеточного кальция, так и за счет входа внеклеточного кальция. Протеинкиназа С блокировала это повышение, а цАМФ-зависимая протеинкиназа не влияла на гистамин-зависимое повышение концентрации  $Ca^{2+}$  в эндотелии человека. Циклический

АМФ потенцировал гистамин-зависимую стимуляцию ФИ обмена в эндотелии. В то же время активация протеинкиназы С вызывала десенситизацию аденилатциклазы и бета-адренорецепторов. Обнаружено, что в эндотелии человека в сопряжении мембранных рецепторов с фосфолипазой С участвуют несколько типов G белков. Гистамин-зависимая активация ФИ обмена блокируется коклюшным токсином, тогда как брадикинин-зависимая стимуляция ФИ обмена не чувствительна к коклюшному токсину. В то же время ботулинический токсин ингибирует брадикинин-зависимую стимуляцию ФИ обмена в эндотелии человека. Представленный материал свидетельствует о взаимодействии между аденилатциклазной системой, фосфоинозитидным обменом и рецептор-управляемыми каналами, осуществляющемся как на уровне G белков, так и на уровне обмена вторичных посредников.

#### РОЛЬ ЛИПИДОВ В ФУНКЦИОНИРОВАНИИ РЕЦЕПТОРНЫХ СИСТЕМ КЛЕТКИ

Туркина Т.И., Извекова В.А., Марченко Л.Ф., Чередеев А.Н.

2-й Московский медицинский институт

Связь метаболизм липидов - иммунный ответ может быть реализована на уровне рецепторного аппарата мембран, т.к. многие функции иммунной системы сопряжены с клеточными рецепторами. Различные препараты, модулируя экспрессию FcR на поверхности клеток могут изменять уровень иммунного ответа. В группе лиц, отвечающих уменьшением FcR на лимфоцитах при модулирующих воздействиях обнаружено увеличение концентрации НЭЖК в лимфоцитарных экстрактах. В ряде случаев ответ FcR на модуляторы отсутствует, что можно связать у здоровых детей с самыми низкими показателями индекса Х/ФЛ (0,54), а у взрослых - с самыми высокими (1,74). У взрослых "ареактивность" лимфоцитарных FcR может быть связана с уменьшением концентрации НЭЖК. Аналогичная группа "ареактивных" лиц выявлена также у детей при патологии (сахарный диабет в стадии декомпенсации - СД). У детей, больных СД, отмечалось уменьшение концентрации НЭЖК, ЭХ, повышение содержания ФЛ, СХ, отношения Х/ФЛ. Поскольку среди перечисленных показателей только НЭЖК участвовали в регуляции экспрессии FcR у здоровых взрослых и детей, минимальное количество их у детей, больных СД, определяет отсутствие реактивности мембран к действию

модуляторов.

У больных ожирением "ареактивность" лимфоцитарных рецепторов выражена значительно слабее по сравнению с больными СД; меньшей степени "ареактивности" FcR при ожирении соответствует меньшая степень изменения уровня НЭЖК. Больных ожирением по степени "реактивности" FcR лимфоцитов можно разделить на две группы: "ареактивную", в которой FcR не отвечают на модуляторы, и "реактивную", в которой FcR отвечают по крайней мере на один из четырех использованных модуляторов. В указанных группах было выявлено достоверное снижение уровня НЭЖК в мембранах "ареактивных" лимфоцитов.

Таким образом, при изучении двух патологий непосредственно связанных с нарушениями липидного обмена, ожирение и СД, выявлена "ареактивность" FcR, степень которой соответствует обеднению мембраны лимфоцитов НЭЖК. В связи с тем, что НЭЖК являются источником для синтеза эндогенных простагландинов (ПГ), это наблюдение подтверждает данные, полученные ранее, о необходимости эндогенных ПГ для реализации FcR-модулирующего действия изопротеренола и экзогенных ПГ на экспрессию FcR, т.к. индометацин, ингибитор синтеза ПГ, блокировал действие этих препаратов.

Итак, содержание НЭЖК в мембранах при нормальных значениях индекса Х/ФЛ (0,54-1,23) имеет определяющее значение при регуляции экспрессии FcR на лимфоцитах.

#### **СОПРЯЖЕННЫЕ С G-БЕЛКАМИ РЕЦЕПТОРЫ ТАХИКИНИНОВ ВЗАИМОДЕЙСТВУЮТ С БЛОКАТОРАМИ АЦЕТИЛХОЛИНОВОГО РЕЦЕПТОРА**

Уткин Ю.Н., Лазакевич Е.М., Кашеверов И.Е., Цетлин В.И.

Институт биоорганической химии АН СССР, Москва

Имеющиеся в литературе данные свидетельствуют о том, что тахикининовые рецепторы (ТХР) сопряжены с G-белками различных типов. С другой стороны показано, что тахикинины, в частности вещество Р (SP), оказывают воздействие на никотиновый ацетилхолиновый рецептор (АХР). Одним из эффектов является ингибирование связывания альфа-бунгаротоксина (Бт) с АХР. Целью настоящей работы явилось исследование влияния лигандов АХР на связывание радиоактивных производных тахикининов с их рецепторами, которые существенно отличаются от АХР по

механизму действия.

Обнаружено, что Бт ингибирует связывание тахикининов с ТХР трех типов (НК-1, НК-2 и НК-3). При этом наиболее эффективно Бт конкурирует с SP (НК-1,  $K_1=80$  нМ), менее эффективно с элодоизином (НК-3,  $K_1=1,1$  мкМ) и наименее эффективно с нейрокинином А (НК-2,  $K_1>1$  мкМ). Карбамоилхолин практически не ингибирует связывания SP и не снимает ингибирующего эффекта Бт. Солюбилизация мембран SNAPS не оказывает влияния на ингибирование Бт связывания SP с НК-1 рецептором. Способность конкурировать с SP за связывание с мозгом присуща также "длинному" нейротоксину 3 *N.n.siamensis* и в существенно меньшей степени "коротким" нейротоксинам. Другие пептидные лиганды АХР конотоксин G1 и тимопентин практически не оказывают влияния на связывание SP с мозгом. Из непептидных лигандов АХР d-тубокурарин и фенциклидин, хотя и с меньшей эффективностью, чем Бт, ингибируют связывание SP с мембранами.

Отсутствие влияния агонистов АХР на связывание SP с ТХР свидетельствует о различии этих рецепторных белков. В то же время в мозге млекопитающих присутствуют Бт-связывающие белки, не являющиеся АХР. Полученные нами данные позволяют сделать вывод о том, что некоторые из Бт-связывающих белков мозга представляют собой ТХР или тесно ассоциированы с ними. Таким образом, результаты настоящей работы и имеющиеся в литературе данные свидетельствуют о наличии взаимосвязи между двумя семействами рецепторов: регулируемые лигандами ионными каналами (АХР) и системами, сопряженными с G-белками (ТХР).

#### **СВЯЗЫВАНИЕ КОМПЛЕКСИРОВАННОГО КОРТИКОСТЕРОНА ТРАНСКОРТИНОМ СЫВОРОТКИ КРОВИ КЛЕТКАМИ ПЕЧЕНИ ПРИ СТАРЕНИИ**

фильченков Г.Н., Науменко В.К., Якубовский С.М.,  
Ластовская Т.Г., Конопля Е.Ф.

Институт радиобиологии АН БССР, Минск

Изучалось связывание кортикостерона (К) транскортином (Т) крови, взаимодействие комплексов ТК (КТК) в составе сыворотки крови крыс-самцов в возрасте 3-4 мес (гр.1) и 24 мес (гр.2) с гепатоцитами (Г) животных соответствующего возраста, а также влияние свободных К, Т и КТК гр.1 и 2 на



рецепцию меченого АМФ Г молодых особей.

Предварительная обработка сыворотки активированным углем в течение 15 мин при  $37^{\circ}\text{C}$  с целью удаления эндогенного К выявило при  $0-2^{\circ}$  с помощью анализа данных в координатах Хилла равновесные параметры связывания К с Т гр.1  $K_a=5,0 \cdot 10^8 \text{M}^{-1}$ ,  $n_H=1,54$ ,  $V_{\text{макс}}=6,0 \cdot 10^{-7} \text{M}$  и для гр.2  $K_a=3,3 \cdot 10^8 \text{M}^{-1}$ ,  $n_H=1,05$ ,  $V_{\text{макс}}=7,7 \cdot 10^{-7} \text{M}$  соответственно. Согласно определенным характеристикам КТК в гр.1 и 2 КТК связывали с Г в течение 5 мин при  $22^{\circ}\text{C}$ . Установлены следующие параметры этого взаимодействия для гр.1  $K_a=2,2 \cdot 10^9 \text{M}^{-1}$ ,  $n_H=2,5$  и  $V_{\text{макс}}=0,5 \cdot 10^{-12}$  моль/10<sup>6</sup> клеток. В гр.2 эти показатели снижаются: 1,3; 1,7; 0,3 соответственно. Перекрестное связывание Г гр.2 с КТК гр.1 и наоборот позволило прийти к выводу, что одной из причин снижения взаимодействия КТК с Г в гр.2 являются изменения сродства и коэфф. Хилла Т к К в крови.

Величина снижения рецепции АМФ была большей в присутствии КТК для гр.1 по сравнению КТК для гр.2. Сами по себе К и Т не оказывали влияния на изучаемую функцию клеток. В результате исследований полученные данные свидетельствуют о наибольшей чувствительности клеток к К, когда К находится в комплексе с Т в составе белков крови, причем КТК должен иметь соответствующую конформацию и олигомерность.

Наряду с этим обнаружено, что обработанные Г гемосорбентом СКН-4М значительно увеличивали связывание КТК, в некоторых случаях до 300%. Однако величина этого повышения была достоверно выше для клеток печени молодых животных по сравнению аналогичных значений для Г старых особей.

#### УЧАСТИЕ ОПИОИДНЫХ РЕЦЕПТОРОВ В РЕГУЛЯЦИИ АНТИТЕЛОПРОДУКЦИИ И РЕАКЦИИ БЛАСТРАНСФОРМАЦИИ МЕТ-ЭНКЕФАЛИНОМ И D-ALA<sup>2</sup>, MET<sup>5</sup>-ЭНКЕФАЛИНАМИДОМ

Хегай Л.А., Ким Б.Б., Гаврилова Е.М., Зайцев С.В.

Московский государственный университет

Изучали влияние мет-энкефалина (MENK) и D-Ala<sup>2</sup>, Met<sup>5</sup>-энкефалинамида (DAMEA) на суточную секрецию антител (IgG) лимфоузлов мышей F1 (СВАхС<sub>57</sub>В16) в процессе вторичного иммунного ответа на белковые антигены (бычий гамма-глобулин и овальбумин). Установлено, что концентрационная зависимость

эффектов носит сложный характер, с зонами супрессии (обычно  $10^{-13}$ - $10^{-15}$  М) и активации (обычно  $10^{-8}$ - $10^{-10}$  М), определяется типом антигена, стадией роста клеток, состоянием мышей.

Такого же рода зависимости были получены при изучении влияния MENK на реакцию бласттрансформации нефракционированных лимфоцитов мышей (F1 (СВАх<sub>57</sub>В16)). Вид кривых определялся типом использованного митогена (ConA, 5-10 мкг/мл, или SEA, 10-100 нг/мл). Амплитуда модуляции MENK реакции бласттрансформации была больше для мышей с высоким порогом болевой чувствительности (45-55 сек) по сравнению с мышами с низким порогом болевой чувствительности (15-25 сек). Все наблюдаемые эффекты MENK отменялись налоксоном в концентрации  $5 \times 10^{-6}$  М. Модулирующие эффекты DAMEA совпадали с эффектами MENK. Полученные данные подтверждают, что модуляция функции иммунокомпетентных клеток энкефалинами осуществляется через опиоидные рецепторы.

#### **ВОВЛЕЧЕНИЕ РЕГУЛЯТОРНЫХ ГТФ-СВЯЗЫВАЮЩИХ БЕЛКОВ В СТИМУЛЯЦИЮ ФОСФОИНОЗИТИДНОГО ОБМЕНА ЛИПОПРОТЕИДАМИ НИЗКОЙ ПЛОТНОСТИ (ЛНП) В КУЛЬТИВИРУЕМОМ ЭНДОТЕЛИИ ПУПОЧНОЙ ВЕНЫ ЧЕЛОВЕКА**

Чекнева Е.Е., Войно-Ясенецкая Т.А., Ткачук В.А.

Всесоюзный кардиологический научный центр АМН СССР, Москва

Основной функцией ЛНП является доставка холестерина к клеткам через специфические мембранные ЛНП-рецепторы. Помимо этой хорошо изученной функции, ЛНП в физиологических концентрациях оказывают воздействие на клетки крови и сосудистой стенки. Так, ЛНP *in vitro* потенцируют агрегацию тромбоцитов, вызванную адреналином и серотонином, влияют на форму тромбоцитов, активируют фосфоинозитидный обмен и повышают внутриклеточную концентрацию кальция в этих клетках. На культивируемом эндотелии пупочной вены человека была обнаружена стимуляция фосфоинозитидного обмена под действием ЛНП. Аналог ГТФ GTP-гамма-S (0.1 мМ) потенцировал ЛНП-зависимую стимуляцию фосфоинозитидного обмена в 2 раза, в то время как стабильный аналог ГДФ GDP-гамма-S (0.1 мМ) полностью блокировал стимуляцию фосфоинозитидного обмена, вызванную ЛНП. В мембранах эндотелиальных клеток пупочной вены человека конклюзанный токсин АДФ-рибозилирует альфа субъединицы  $G_1$ -белка

1 и 3 типов. Преинкубация эндотелиальных клеток с коклюшным токсином (10 мкг/мл) в течение 2 часов блокировала ЛНП-зависимую стимуляцию фосфоинозитидного обмена.

Полученные результаты говорят о вовлечении регуляторного ГТФ-связывающего белка, чувствительного к коклюшному токсину, в ЛНП-зависимую стимуляцию фосфоинозитидного обмена в культивируемом эндотелии пупочной вены человека.

### **НОВЫЙ ВЗГЛЯД НА РОЛЬ ЩЕЛОЧНЫХ ФОСФАТАЗ В БИОСЕНСОРАХ**

Чухрай Е.С., Полторак О.М., Веселова М.Н

Химический факультет МГУ, Москва

По нашим данным щелочная фосфатаза (КФ 3.1.3.1) не является биологически значимым неспецифическим ферментом гидролиза моноэфиров ортофосфорной кислоты, а представляет собой сложный белок многих биосенсоров, способным проявлять фосфатазную активность при щелочных значениях pH как побочную функцию. Ряд белков биорецепторов имеют в активных центрах фосфосерин-имидазольную пару и связывают ионы двухвалентных металлов: магния, цинка, марганца и др. В нефизиологических условиях pH 9-10 они способны осуществлять фосфатазную реакцию, поскольку в этих условиях фосфосерин оказывается неустойчивым и способен выполнять роль промежуточного соединения в реакции дефосфорилирования.

В обонятельной выстилке крысы обнаружено три типа щелочных фосфатаз: растворимая ( $K_M = 1 \cdot 10^{-3}$  М) и две иммобилизованные формы с  $K_M = 2,5 \cdot 10^{-3}$  и  $1 \cdot 10^{-5}$  М. Показано, что летучие компоненты мочи крысы связываются с иммобилизованной формой щелочной фосфатазы, и при этом наблюдается изменение её кинетических свойств. Связывание обратимо. Иммобилизованная форма щелочной фосфатазы активируется. Другие запаховые молекулы также оказались эффекторами для иммобилизованных форм щелочной фосфатазы (например, ванилин ингибирует фосфатазную активность).

Обсуждается возможная роль щелочных фосфатаз обонятельной слизи в концентрировании, растворении и транспорте запаховых молекул, а иммобилизованных форм в процессах первичной рецепции одорантов обонятельными нейронами.

## ОЦЕНКА ВЗАИМОДЕЙСТВИЯ ВНЕКЛЕТОЧНЫХ АДЕНИЛОВЫХ НУКЛЕОТИДОВ С ПУРИНОВЫМИ РЕЦЕПТОРАМИ ПЛАЗМАТИЧЕСКИХ МЕМБРАН

Якубовский С.М., Егуткин Г.Г.

Институт радиобиологии АН БССР, Минск

Проведено изучение взаимодействия меченого аденозинмонофосфата ( $[^3\text{H}]\text{AMP}$ ) с плазматическими мембранами печени и жировой ткани. Данные по насыщающему характеру связывания  $[^3\text{H}]\text{AMP}$  с мембранами и его ингибированию немечеными нуклеотидами ( $\text{AMP}$ ,  $\text{ADP}$ ,  $\text{ATP}$ ) и аденозином позволяют считать, что  $\text{AMP}$  взаимодействует с мембраносвязанными пуриновыми рецепторами  $\text{P}_2$  подтипа, согласно принятой классификации (Burnstock, 1981). Кинетика связывания  $[^3\text{H}]\text{AMP}$  с мембранными рецепторами характеризуется высокой скоростью установления равновесия (15–30 сек при  $37^\circ\text{C}$ ), сопоставимой со скоростью таких метаболических эффектов нуклеотидов, как образование вторичных мессенджеров, модуляция ферментативной активности, процессы гликогенолиза и глюконеогенеза. Неспособность мембран после предварительной обработки трипсином связывать  $[^3\text{H}]\text{AMP}$  указывает на белковую природу исследуемых рецепторов.

Связывание  $[^3\text{H}]\text{AMP}$  с мембранами повышалось в присутствии конканавалина А, ингибировавшего активность мембраносвязанной 5'-нуклеотидазы. Рецепция  $[^3\text{H}]\text{AMP}$  изменялась также под действием белково-пептидных гормонов инсулина и соматотропина. Обсуждаются мембранные механизмы регуляции активности пуриновых рецепторов в клетке.

## КАК МУСКАРИНОВЫЙ РЕЦЕПТОР ОТЛИЧАЕТ АГОНИСТ ОТ АНТАГОНИСТА

Ярв Я.

Тартуский университет

В соответствии с классическими представлениями о взаимодействии агонистов и антагонистов с рецепторами, эти лиганды конкурируют за общий участок связывания на рецепторе, вызывая разные физиологические эффекты. В рамках этой концепции, однако, остается неясной механизм дифференциации рецептором между молекулами агонистов и антагонистов, поскольку по настоящее время вопрос молекулярного узнавания структуры

лигандов активными центрами белков трактуется, в основном, как зависимость эффективности связывания реагента от его строения.

С целью более детального обсуждения этих проблем было проведено исследование механизма взаимодействия ряда антагонистов и агонистов с ацетилхолиновым рецептором мускаринового типа, применяя при этом методы кинетического анализа. Разработанная методика допускала проведение кинетических измерений как с радиоактивными лигандами, так и с нерадиоактивными веществами.

В результате этих исследований установлено, что мускариновые агонисты и антагонисты взаимодействуют с разными лиганд-связывающими центрами на рецепторе. Поскольку эти центры характеризуются разной специфичностью относительно к структуре реагента, проявляя, например, противоположную зависимость эффективности связывания от "объема" молекулы лиганда, то вопрос о механизме дифференциации рецептором между структурами агонистов и антагонистов сводится к распределению этих лигандов между соответствующими связывающими центрами.

#### РЕГУЛЯЦИЯ СИНТЕЗА АНФ НА ТРАНСКРИПЦИОННОМ И ПОСТТРАНСКРИПЦИОННОМ УРОВНЯХ

Ярыгин К.Н., Якушева М.Л., Анкудинова О.Н., Беспалова Ж.Д.  
Всероссийский кардиологический научный центр АМН СССР, Москва

Атриальный натрийуретический фактор (АНФ), синтезируемый клетками предсердия, желудочков и нервной ткани, относится к эндогенным регуляторам сердечно-сосудистой деятельности. Изучение закономерностей его продукции названными клетками представляет большой интерес для экспериментальной и клинической кардиологии. С помощью методов количественного определения кодирующей препро-АНФ мРНК (АНФ - мРНК) и радиоиммунологического определения АНФ мы исследовали роль симпатической нервной системы, самого АНФ и других кардио- и вазоактивных пептидов в контроле синтеза АНФ. Химическая симпатэктомия вызвала достоверные изменения синтеза мРНК, АНФ-мРНК и АНФ в желудочках сердца крыс. *In vitro* лиганды адренорецепторов модулировали кинетику усиления синтеза АНФ-мРНК и АНФ в папиллярной мышце изолированных кардиомиоцитов

крыс, индуцированного растяжением мышцы или стимуляторами фосфоинозитидного обмена. Модуляция ответа наблюдалась также при добавлении в инкубационную среду АНФ и его укороченных аналогов, эндотелина и ряда других пептидов. Наши данные свидетельствуют о том, что синтез АНФ контролируется и гемодинамическими показателями, в частности, степенью растяжения сердечной мышцы, и медиаторами межклеточной коммуникации (ММК) пептидной и непептидной природы. ММК оказывает свое влияние как опосредовано изменяя параметры гемодинамики, так и непосредственно воздействуя на кардиомиоциты через специфические мембранные рецепторы.

## СПИСОК АВТОРОВ

Абрамов В.М.	-	24, 48
Абутидзе К.Д.	-	45
Аввакумов Г.В.	-	26, 33, 34
Авдонин П.В.	-	67
Ажипа Я.И.	-	1
Акимов Ю.А.	-	1
Алахов В.Ю.	-	2
Алфеева Л.Ю.	-	41
Анкудинова О.Н.	-	4, 75
Артемьев Н.О.	-	18
Бабенко Н.А.	-	3
Балабанов Ю.В.	-	5
Балдин М.И.	-	4
Беловалова И.М.	-	65
Белоконева О.С.	-	4
Беспалова Ж.Д.	-	4, 75
Бобрышев Ю.В.	-	5
Болотова Е.В.	-	6
Буланова К.Я.	-	7
Бунятян Г.Г.	-	8
Бурлакова Е.Б.	-	38
Варфоломеев С.Д.	-	9, 22, 60
Василенко Р.Н.	-	22, 24
Васильева И.В.	-	65
Вашкевич И.И.	-	26
Веселова М.Н.	-	73
Виноградов В.А.	-	57
Вишнякова Т.Г.	-	55
Войно-Ясенецкая Т.А.	-	67, 72
Володина Е.Ю.	-	22
Гаврилин М.А.	-	30
Гаврилова Е.М.	-	71
Галактионов В.Г.	-	10, 22
Гамбурцева Т.Д.	-	65
Гарновская М.Н.	-	18, 31
Герасимович Н.В.	-	11
Говорунова Е.Г.	-	12

Городинский А.И.	-	56
Гофенберг С.И.	-	13
Гривенников И.А.	-	41
Григорьев А.А.	-	23
Григорян Г.Ю.	-	67
Гришин Е.В.	-	13
Грищенко А.И.	-	1
Давлетов Э.Г.	-	14
Дамбинова С.А.	-	5, 15, 56
Демина М.Н.	-	56
Донченко Г.В.	-	16
Дроздова Е.И.	-	17, 51
Дувакин И.А.	-	2, 6
Думлер И.Л.	-	18, 31
Дыгало Н.Н.	-	19
Евдокименко С.Г.	-	39
Егорова Л.К.	-	1
Егуткин Г.Г.	-	74
Еременко А.В.	-	20
Ермоленко М.Н.	-	58
Ефименко А.Н.	-	13
Житкович А.В.	-	21
Жуков В.П.	-	39
Жумагалиева Г.Д.	-	44
Завьялов В.П.	-	20, 48
Зайцев С.В.	-	9, 22, 71
Зеленина М.Н.	-	64
Иванова Л.Н.	-	37, 64
Извекова В.А.	-	68
Изумрудова И.И.	-	32
Ильина А.Д.	-	23, 26
Ильина Г.С.	-	41
Исаев И.С.	-	22, 24, 48
Камилов Ф.Х.	-	14
Капралов А.А.	-	16
Карелсон Э.И.	-	36
Кармальков С.А.	-	25
Карпыза Е.И.	-	58
Кауров О.А.	-	22



Кашеверов И.Е.	-	69
Ким Б.	-	71
Киселева Е.П.	-	26
Киселева Э.Э.	-	58
Клинский Е.Ю.	-	2
Клодт П.М.	-	23, 26
Князев Ю.А.	-	44
Князева А.П.	-	65
Кожич А.Т.	-	22
Колчинская Л.И.	-	27
Кондратенко Т.Я.	-	28
Кондратьев А.Д.	-	29
Конопля Е.Ф.	-	30, 70
Корани Л.	-	19
Коричнева И.Л.	-	41
Корольков С.Н.	-	31
Котляр Б.И.	-	17, 51
Кошкин А.А.	-	32, 66
Крупенко Н.И.	-	33
Крупенко С.А.	-	34
Кузина Н.В.	-	28
Курнакова Н.В.	-	38
Курочкин И.Н.	-	20, 13
Кыйв А.Х.	-	35
Лазакович Е.М.	-	69
Ланд Т.В.	-	35, 36
Лангел Ю.Л.	-	35
Ласговская Т.Г.	-	70
Леваи Д.	-	19
Лещенко Э.В.	-	60
Литвин Ф.Ф.	-	12
Логвиненко Н.С.	-	37
Лудич Е.И.	-	10
Лукша Г.Л.	-	30
Майоров В.А.	-	22
Майский А.И.	-	23
Мальцева Е.Л.	-	38
Малыгин В.В.	-	39
Малышева Е.Л.	-	41

Макарова И.А.	-	41
Марченко Л.Ф.	-	68
Матарадзе Г.Д.	-	55
Меликян А.М.	-	8
Меркулов В.М.	-	42
Меркулова Т.И.	-	42, 43, 52
Милова А.А.	-	19
Милютин А.А.	-	11, 25, 59
Микаелян Н.П.	-	44
Микеладзе Д.Г.	-	45
Микерин И.Е.	-	47
Монтик В.И.	-	30
Мориц В.В.	-	46
Морозова Т.М.	-	49, 61
Москалева Е.Ю.	-	2
Москвитина Е.Л.	-	6, 47
Наволоцкая Е.В.	-	22, 24, 48
Нагибнева И.Н.	-	49
Налбандян Р.М.	-	8
Науменко В.К.	-	70
Николаенко Л.Н.	-	27
Никулина Е.Б.	-	43
Осадчук А.В.	-	50
Пальмина Н.П.	-	38
Петрова Г.В.	-	16
Пивоваров А.С.	-	17, 51
Плисов С.Ю.	-	43, 52
Погорелая Н.Х.	-	27
Полторак О.М.	-	73
Породенко Н.В.	-	52
Прокудин В.Ю.	-	52
Прусаков А.Н.	-	22
Рау В.А.	-	61
Ринкен А.А.	-	53
Родионов А.А.	-	1
Розен В.Б.	-	54, 55
Рыбин В.О.	-	41, 13
Рудченко С.А.	-	41
Савинов А.Ю.	-	56

Самовилова Н.Н.	-	57
Свечников К.В.	-	50
Свиридов О.В.	-	58
Свиташева Н.Г.	-	37
Северин Е.С.	-	2
Северин С.Е.	-	29, 47
Селедцов И.А.	-	43, 52
Селявко В.В.	-	30, 5
Семенкова Л.Н.	-	10
Сепетов Н.Ф.	-	4
Сергеев П.В.	-	60
Сергеева М.Г.	-	60
Сидоркина О.М.	-	61, 49
Силлард Р.Г.	-	36
Синешев О.А.	-	12
Смирнов А.Н.	-	55, 63,
Смирнова О.В.	-	55
Соленов Е.И.	-	37, 64
Соловьев В.В.	-	43
оломония Р.О.	-	45
Старосельцева Л.К.	-	65
Стрельченко О.А.	-	34, 58
Судьина Г.Ф.	-	66
Сухомлин Т.К.	-	13
Тарасов В.И.	-	2
Татаринцев А.В.	-	66
Ткачук В.А.	-	13, 67, 72
Туркина Т.И.	-	68
Уварова И.С.	-	20
Уткин Ю.Н.	-	69
Фильченков Г.Н.	-	70
Хегай Л.А.	-	71
Цетлин В.И.	-	69
Чекнева Е.Е.	-	72
Чередеев А.Н.	-	68
Чухрай Е.С.	-	73
Шимановский Н.Л.	-	60
Шишкина Г.Т.	-	19
Щелкунова Т.А.	-	63

Эллер М.Х.	-	46
Эндречи Э.	-	19
Юхананов Р.Ю.	-	23, 26
Якубовский С.М.	-	70, 74
Якушева М.Л.	-	4, 75
Ярв Я.Л.	-	36, 46, 74
Ярыгин К.Н.	-	4, 75

ВСЕСОЮЗНЫЙ СИМПОЗИУМ "БИОХИМИЯ РЕЦЕПТОРНЫХ СИСТЕМ".  
Тезисы.  
На русском языке.  
Тартуский университет.  
ЭР, 202400, г.Тарту, ул.Юликооли, 18.  
Ответственный редактор Я. Ярв.  
Подписано к печати 9.10.1990.  
Формат 60x84/16.  
Бумага ротаторная.  
Машинопись. Ротапринт.  
Условно-печатных листов 4,88.  
Учетно-издательских листов 4,73. Печатных листов 5,25.  
Тираж 250.  
Заказ № 643.  
Цена 1 руб. 50 коп.  
Типография ТУ, ЭР, 202400, г.Тарту, ул.Тийги, 78.