

Е. Г. ИВАНОВСКАЯ, А. Г. МАЛЕНКОВ

ИЗМЕНЕНИЕ ОКИСЛИТЕЛЬНО-ВОССТАНОВИТЕЛЬНОГО ПОТЕНЦИАЛА РЕГЕНЕРИРУЮЩЕЙ ПЕЧЕНИ

(Представлено академиком Г. М. Франком 2 XI 1970)

Хотя в настоящее время механизм запуска синтеза ДНК в клетках остается неизвестным, ряд важных условий, которым должен удовлетворять этот механизм, установлен. Кратко перечислим эти условия:

1. Репликация ДНК начинается в определенном участке молекулы — репликаторе, который у бактерий (¹, ²) связан с цитоплазматической мембраной, а у эукариотов (³, ⁴) с ядерной оболочкой.

2. Начало синтеза зависит от некоторых общих параметров клетки, например от отношения массы к числу репликаторов (⁵).

3. Начало синтеза ДНК более чувствительно к работе энергодающих систем, чем продолжение синтеза (⁶), причем, вероятно, наиболее чувствителен к поступлению энергии процесс расхождения двойной спирали ДНК, который предшествует репликации (⁷).

4. В ядрах, вступивших в синтез ДНК, происходят такие изменения, которые не могут быть вызваны в ядрах, взятых из клеток, находящихся в предсинтетическом периоде, даже если добавить в инкубационную среду необходимые для синтеза ферменты и предшественники (⁸).

Совокупность этих данных указывает, по нашему мнению, на то, что синтез ДНК запускается через изменение общих энергетических параметров клетки. Иными словами, можно предположить, что репликатор чувствителен к таким физико-химическим характеристикам, как окислительно-восстановительный потенциал (о.в.п.) или рН среды. Модельные исследования двухтяжевой конфигурации ДНК (⁹, ¹⁰) демонстрируют такую возможность. Эти работы становятся особенно интересными, если вспомнить, что именно расхождение двойной спирали ДНК является узким местом начала репликации и что этот процесс особенно чувствителен к поступлению энергии.

Эти соображения делают, на наш взгляд, интересным сопоставление кинетики синтеза ДНК и изменения о.в.п., так как согласно высказанному предположению изменение о.в.п. должно предшествовать или сопровождать начало синтеза ДНК.

Нами проведено исследование кинетики изменения о.в.п. регенерирующей печени мышей линии С₃НА с помощью платинового вживленного полумикроэлектрода. Регенерация вызывалась операцией частичной гепатектомии по (¹¹), а в оставшуюся долю печени вводили электрод. Электрод представлял собой медную проволоку диаметром 20 мк в стеклянной изоляции толщиной 5 мк. Участок электрода, позднее располагавшийся в печени, очищался от изоляции и покрывался слоем платины толщиной около 10 мк (¹²). Операция вживления электрода и гепатектомии проводилась под гексеналовым наркозом. Для введения в печень электрод вставляли в стеклянный микрокапилляр и далее печень, как ниткой, прошивали электродом. Платинированный средний участок электрода располагался в печени, а изолированные концы его свободно свешивались в рану. Затем мышцы и брюшину зашивали, проводя концы электрода через шов. Под кожей выводили элект-

род на спину животному и припаявали концы к клемме. Тонкая полиэтиленовая трубка, заполненная агар-агаром и насыщенным раствором КСl, вшивалась под кожу мыши на спине и соединялась с хлорсеребряным электродом. Регистрация разности потенциалов между двумя электродами проводилась с помощью потенциометра ЛПУ-01, который был связан с самописцем типа НЗ72. Во время измерений, длившихся сутки и более, животные находились в узких пеналах из плексигласа, ограничивающих их движения одним измерением. Пеналы помещались в железную клетку, которая тщательно заземлялась.

Были исследованы суточные колебания о.в.п. печени у 5 животных и изменение потенциала после частичной гепатектомии у 4 животных. Кроме того, гистологически исследовались изменения, вызываемые вживляемым электродом в окружающую его ткань печени. На гистологических срезах печени, взятых у животных через день после вживления электрода, видно, что только в непосредственной близости от места вхождения электрода (не более одного ряда клеток) клетки десквамированы и частично некротизированы. Реактивных изменений со стороны печени нет.

Величина разности окислительно-восстановительного потенциала нормальной печени и кожи у всех 5 животных на протяжении суток находилась в интервале 25—37 мв. Колебания таким образом не превышали 12 мв.

Кинетика изменений разности о.в.п. регенерирующей печени и кожи во времени после операции частичной гепатектомии показана на рис. 1, где приведены кривые для каждой мыши. Из рисунка видно, что во всех случаях наблюдается однотипный характер изменения о.в.п.: на 10—15-й час после операции отмечается резкое повышение о.в.п. на 50—100 мв. Через 20—24 часа значение о.в.п. приближается к исходному. Из литературы известно, что после операции частичной гепатектомии, проведенной по использовавшейся нами методике, синтез ДНК в печени резко усиливается на 12—14-й час после операции и заканчивается к 24 часам (¹²⁻¹³), причем большая часть клеток (70—90%) вступает в синтез ДНК. Таким образом, наблюдаемое нами повышение о.в.п. несколько предшествует или сопутствует началу синтеза ДНК. Значение о.в.п. остается повышенным и на протяжении большей части периода синтеза ДНК. Так как наш измерительный электрод непосредственно соприкасается с паренхиматозными клетками, которые составляют подавляющую массу ткани, то можно думать, что изменения тканевого о.в.п. отражают, по крайней мере качественно, изменения внутриклеточного о.в.п.

Таким образом, проведенное экспериментальное исследование кинетики изменения о.в.п. в регенерирующей печени указывает на наличие тесной временной корреляции начала синтеза ДНК и резкого повышения о.в.п. По нашему мнению, эта временная корреляция отражает и причинную связь между этими двумя процессами, а именно то, что синтез ДНК запускается путем резкого повышения о.в.п., которое «включает» репликаторы.



Рис. 1. Кривые изменения разности о.в.п. регенерирующей печени и кожи для мышей №№ 1, 2, 3, 4

ЦИТИРОВАННАЯ ЛИТЕРАТУРА

- ¹ F. Jakob, A. Brewer, F. Cuzin, Proc. Roy. Soc. London, ser. B, 164, 267 (1966). ² R. G. Lark, Bacteriol. Rev., 30, 3 (1966). ³ D. E. Comings, Am. J. Human Gen., 20, 440 (1968). ⁴ D. E. Comings, T. Kakefuda, J. Mol. Biol., 36, 225 (1968). ⁵ W. D. Donachie, Nature, 219, 1077 (1968). ⁶ P. L. Webster, J. Want Hoff, J. Exp. Cell Res., 55, 88 (1969). ⁷ J. Cairns, D. Denhardt, J. Mol. Biol., 36, 335 (1968). ⁸ E. N. Brewer, H. R. Rush, Biochem. Biophys. Res. Commun., 21, 235 (1965). ⁹ В. И. Иванов, Биофизика, 10, 11 (1965). ¹⁰ В. И. Иванов, Л. Е. Минченкова, Биохимия, 30, 1213 (1965). ¹¹ J. M. Higgs, R. M. Anderson, Arch. Pathol., 2, 186 (1932). ¹² В. И. Лайнер, Современная гальванотехника, М., 1966. ¹³ M. Abercrombie, R. D. Harkness, Proc. Roy. Soc., 138, 544 (1951). ¹⁴ N. L. R. Bucher, Int. Rev. Cytol., 15, 245 (1965). ¹⁵ R. E. Beltz, J. Van Lancer, V. R. Potter, Cancer Res., 17, 688 (1957).