ОНТОГЕНЕЗ, 2008, том 39, № 3, с. 198–207

ЦИТОЛОГИЯ РАЗВИТИЯ

УДК 57.034:577.217.5+57.085.23

СИГНАЛЬНЫЕ ФАКТОРЫ САМООРГАНИЗАЦИИ РИТМА СИНТЕЗА БЕЛКА В КУЛЬТУРАХ ГЕПАТОЦИТОВ – ГАНГЛИОЗИДЫ И КАТЕХОЛАМИНЫ – ФУНКЦИОНИРУЮТ НЕЗАВИСИМО ДРУГ ОТ ДРУГА[1]

© 2008 г. Н. Д. Звездина, Л. А. Мальченко, В. И. Фатеева, В. Я. Бродский

Институт биологии развития им. Н.К. Кольцова

119334 Москва, ул. Вавилова, д.26

E-mail: brodsky.idb@bk.ru

Поступила в редакцию 16.07.07 г.

Окончательный вариант получен 28.09.07 г.

Учитывая данные о снижении уровня самоорганизации (самосинхронизации) ритма синтеза белка при старении, изучено возможное влияние сигнальных факторов самоорганизации – ганглиозидов и катехоламинов – друг на друга, а также исследованы особенности рецепции катехоламинов. Объект исследования – первичные культуры крысиных гепатоцитов на стеклах. Торможение синтеза ганглиозидов не препятствовало действию α-адреномимитика фенилэфрина в организации ритма синтеза белка. После блокады α-рецепторов празозином ритм синтеза белка наблюдали после действия ганглиозидов. α-Адренолитики празозин и беноксатиан прекращали синхронизирующий эффект фенилэфрина. β-Адренолитик пропранолол ликвидировал синхронизирующее действие β-адреномиметика изопротеренола. Смесь α- и β-адренолитиков ингибирует организующее ритм синтеза белка действие норадреналина. Таким образом, сигнальные молекулы самоорганизации ритма синтеза белка функционируют независимо друг от друга, действуя через специфические рецепторы.

Ключевые слова: межклеточные взаимодействия, межклеточная кооперация, самоорганизация клеток, самоорганизация ритма синтеза белка, гепатоциты, ганглиозиды, норадреналин, фенилэфрин, изопротеренол, адренолитики.

Ранее было показано, что прямые межклеточные взаимодействия приводят к синхронизации колебаний скорости синтеза белка в культурах гепатоцитов, и в результате определяется суммарный ритм в популяции клеток (Бродский и др., 1997, 2005, 2006а,б; Brodsky et al., 2000, 2003, 2007; Звездина и др., 2003). Эндогенными сигнальными факторами – триггером цепи реакций, организующих ритм, – являются ганглиозиды GM1 или $GD1_a$, синтезирующиеся в гепатоцитах и выделяющиеся в межклеточную среду. В иммуноцитохимическом исследовании мы обнаружили высокую экспрессию GM1 в культурах с выраженным ритмом синтеза белка. Блокирование синтеза и выделения ганглиозидов ликвидировало ритм. Другими сигнальными факторами, также организующими ритм, в наших опытах были адреномиметики норадреналин и его фармакологический аналог фенилэфрин. Синтезируется ли в гепатоцитах норадреналин, неизвестно и сомнительно: блокирование синтеза и секреции ганглиозидов, как отмечалось, ликвидировало ритм, чего не было бы, если в клетке и в кондиционированной среде был бы норадреналин. Экзогенный, добавленный в среду фениэфрин, как известно, воспринимается α-адренорецепторами, а норадреналин – и α-, и β-рецепторами. Обе ли группы рецепторов активны при введении в среду норадреналина? Только ли через рецепторы действует на клеточные культуры норадреналин? Как основание декарбоксилированный фенилаланин – норадреналин, изменяя свойства межклеточной среды, заведомо может влиять на синтез белка. Влияют ли ганглиозиды и катехоламины друг на друга в рецепции синхронизирующего гепатоциты сигнала? Ганглиозиды, как известно, могут быть корецепторами многих лигандов.

Задачи этой работы могут быть интересны в выяснении влияний старения на ритм синтеза белка. У старых крыс ритм выражен слабо (Бродский и др., 2005). В сыворотке крови, межклеточной среде гепатоцитов *in situ*, значительно снижена концентрация ганглиозидов и норадреналина (Прозоровская, 1983; Nakamura et al., 1993; Ozkok et al., 1999). По на-

[1] Работа поддержана Российским фондом фундаментальных исследований (проекты № 06-04-48109, 05-04-48293).

шим данным, добавление ганглиозидов в сыворотку повышало синхронизацию ритма синтеза белка до уровня, характерного для гепатоцитов молодых животных.

Как и ранее (Brodsky et al., 2000), в работе использованы два типа первичных культур крысиных гепатоцитов на стеклах. В плотных культурах с близко расположенными клетками ритм синтеза белка выявляется практически сразу же после смены среды, т.е. такие культуры быстро самосинхронизируются. В разреженных культурах, полученных из той же суспензии изолированных гепатоцитов примерно в 10-кратном разведении, ритм определяется лишь через несколько часов культивирования. Именно в исходно несинхронных культурах введение в среду ганглиозидов или катехоламинов выявляет ритм уже через 10–15 мин, т.е. сигнальные факторы быстро организуют клетки.

Гипотезы о влиянии различных синхронизаторов синтеза белка друг на друга и возможном неспецифическом их действии не подтвердились. В настоящей работе показано, что ганглиозиды и катехоламины синхронизируют ритм синтеза белка независимо друг от друга. Катехоламины осуществляют свою организующую функцию, связываясь со специфическими α- и β-адренорецепторами гепатоцитов.

МАТЕРИАЛ И МЕТОДИКА

Исследована кинетика синтеза белка в культурах гепатоцитов, изолированных из печени крыс линии Вистар (вес 250–280 г, возраст около 3 мес). Методы подготовки и изучения материала подробно изложены ранее (Brodsky et al., 2000; Бродский и др., 2006б). Для изоляции клеток использовали раствор коллагеназы в бескальциевой среде; в суспензии содержалось не менее 90% жизнеспособных гепатоцитов. Исходную или разведенную суспензию разливали в чашки Петри со стеклами, покрытыми коллагеном. Получали или плотные культуры с близко расположенными клетками, или же разреженные культуры. Культуры содержали в среде 199 с 0.2 мг/мл альбумина для клеточных культур (“Sigma”, США) и 0.5 мкг/мл инсулина (“Sigma”, США) в газовой фазе: 95% воздуха и 5% CO_2. В большинстве опытов использовали суточные культуры; в одной серии – двухсуточные.

Пробы, по три культуры каждая, брали последовательно через 10 мин в течение 2 ч. Каждую культуру инкубировали отдельно в течение 10 мин при 37°C в среде с ^{3}H-лейцином (92.5–111 $\times$ 10^4 Бк/мл, специфическая молярная активность 259–370 $\times$ $\times$ 10^{-6} Бк/ммоль). Культуры промывали холодной средой и обрабатывали холодной (4°C) 5%-ной хлорной кислотой в течение 90 мин. Затем культуры промывали этиловым спиртом, и клеточные белки растворяли гиамином (бензетониум гидроксид, “Sigma”). Радиоактивность лейцина в белках и небелковой кислоторастворимой фракции, т.е. свободного лейцина в клетках, измеряли в каждой культуре, используя сцинтилляционный счетчик LKB 1214 Rackbeta (Швеция). Рассчитывали относительное включение лейцина в белки с поправкой на пул свободного лейцина (формулу для расчетов см. в цитированных выше статьях). Поскольку включение и пул измеряли в одной и той же культуре, в относительной величине I_{corr} вводится поправка не только на варьирование пула, но также на число клеток в культуре. Каждый опыт ставили на культурах гепатоцитов одной крысы. Индивидуальные различия абсолютных значений интенсивности синтеза белка у разных крыс для целей нашей работы несущественны: мы сравнивали кинетику синтеза белка в клетках одной и той же печени.

Изучена кинетика синтеза белка при действии на культуры гепатоцитов адреномиметиков – норадреналина, фенилэфрина и изопротеринола, а также влияние адренолитиков – беноксатиана, празозина и пропранолола; все реактивы – фирмы “Sigma”, США.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Показана синхронизация колебаний скорости синтеза белка фенилэфрином после торможения секреции и синтеза ганглиозидов в культурах гепатоцитов (рис. 1). Специфический ингибитор PPPP (1-фенил-2-гексадеканоламино-3-пирролидино-1-пропанол гидрохлорид) тормозит активность глюкозилцерамидсинтазы, ключевого фермента синтеза ганглиозидов (Li, Ladisch, 1996, 1997; Olshefski, Ladisch, 1998; Wen Deng et al., 2000). По нашим данным (Brodsky et al., 2003), после обработки гепатоцитов PPPP более чем на 90% снижается концентрация ганглиозида – синхронизатора GM1 в межклеточной среде. Как было показано и ранее, в новом опыте (рис. 1) PPPP ликвидировал ритм синтеза белка в плотных культурах гепатоцитов. В контрольных плотных культурах после смены среды, как обычно, регистрировали околочасовой ритм синтеза белка с 50- и 20-минутными периодами в этом 2-часовом опыте. α_1-Адреномиметик фенилэфрин в дозе 2 мкМ, введенный на 2 мин в среду с культурами, предобработанными PPPP, восстанавливал ритм синтеза белка: в течение 2 ч наблюдали 40, 20 и 30-минутные периоды. Следовательно, ингибирование синтеза ганглиозидов не сказывается на рецепторах фенилэфрина и, соответственно, на сигнальной синхронизирующей

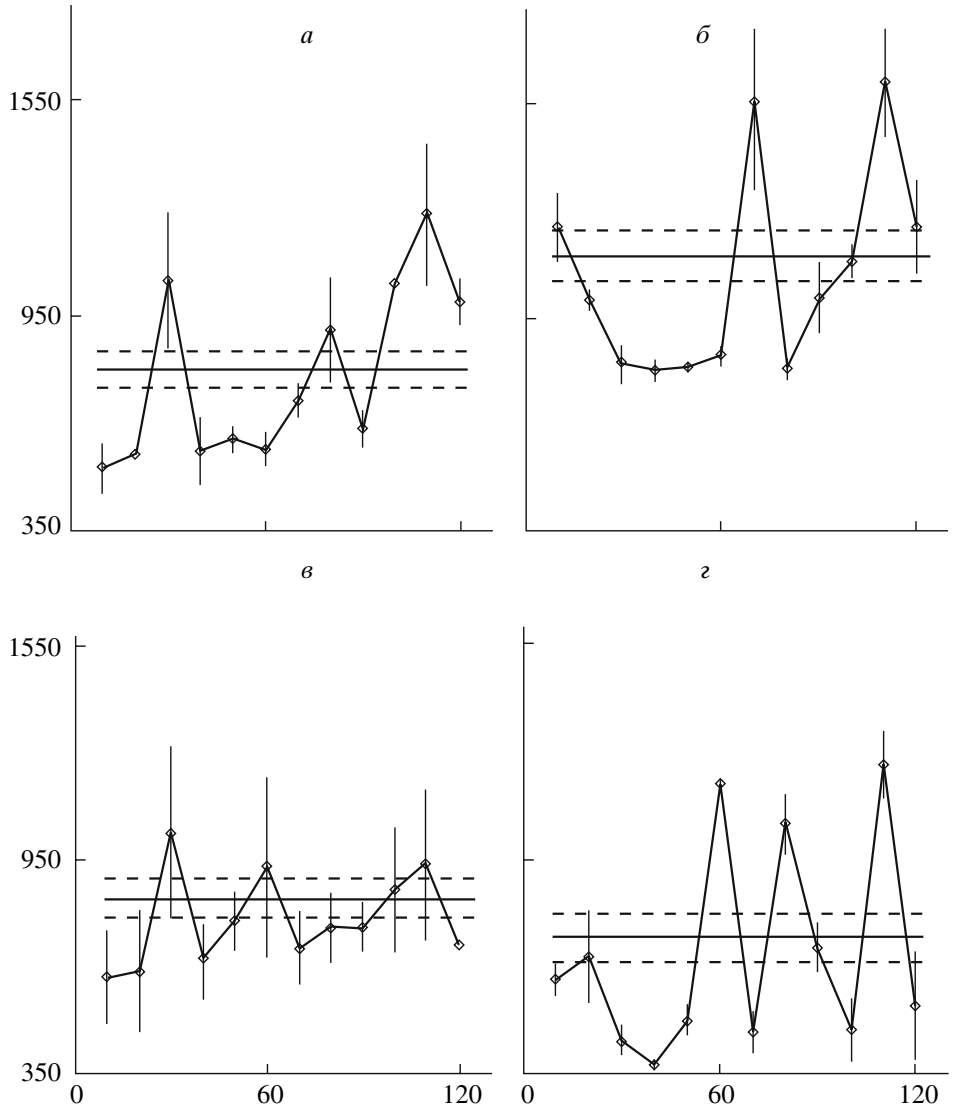

Рис. 1. Исследование самосинхронизации ритма синтеза белка в 2-суточных плотных культурах гепатоцитов: *а* – контроль: плотные культуры инкубированы в течение 2 сут в нормальной среде, отмыты, инкубированы 10 мин в свежей среде, отмыты, инкубированы еще 60 мин с последующим взятием из той же среды проб с ^{3}Н-лейцином; *б* – эффект α_1-адреноблокатора беноксатиана (0.35 мкМ) на 2-суточные культуры: плотные культуры инкубированы в течение 2 сут в нормальной среде, отмыты, инкубированы 10 мин в свежей среде, инкубированы 60 мин в среде с беноксатианом с последующим взятием проб из той же среды; *в* – культуры предынкубированы с 1мкМ РРРР, отмыты, инкубированы 10 мин в нормальной среде, вновь отмыты, перенесены в свежую среду и через 60 мин взяты пробы из этой среды; *г* – фенилэфрин после предынкубации культур с РРРР: инкубация 24 ч с РРРР, отмывка, инкубация 10 мин в среде, куда на 2 мин (от 8 до 10 мин) внесен ферилэфрин до финальной концентрации 2 мкМ, отмывка, инкубация 60 мин в нормальной среде с последующим взятием из той же среды проб с ^{3}Н-лейцином.

Здесь и далее: по оси абсцисс – время, мин; по оси ординат – I_{corr}, имп/мин.

функции этого адреномиметика. На рис. 1, *б* приведены данные о сохранении ритма синтеза белка в плотных культурах после их обработки в течение 1 ч α_1-адренолитиком беноксатианом (0.35 мкМ). Поскольку эндогенным синхронизатором в культивируемых гепатоцитах, вероятно, являются только ганглиозиды, из результатов этого опыта следует, что синхронизирующая функция ганглиозидов не зависит от состояния адренорецепторов (см. также рис. 7).

О том, что действие фенилэфрина на гепатоциты осуществляется через специфические α-адренорецепторы, следует из опытов с действием α-адренолитиков – беноксатиана и празозина – на разреженные, в контроле несинхронные культуры гепатоцитов (рис. 2, 3). В контрольных разре-

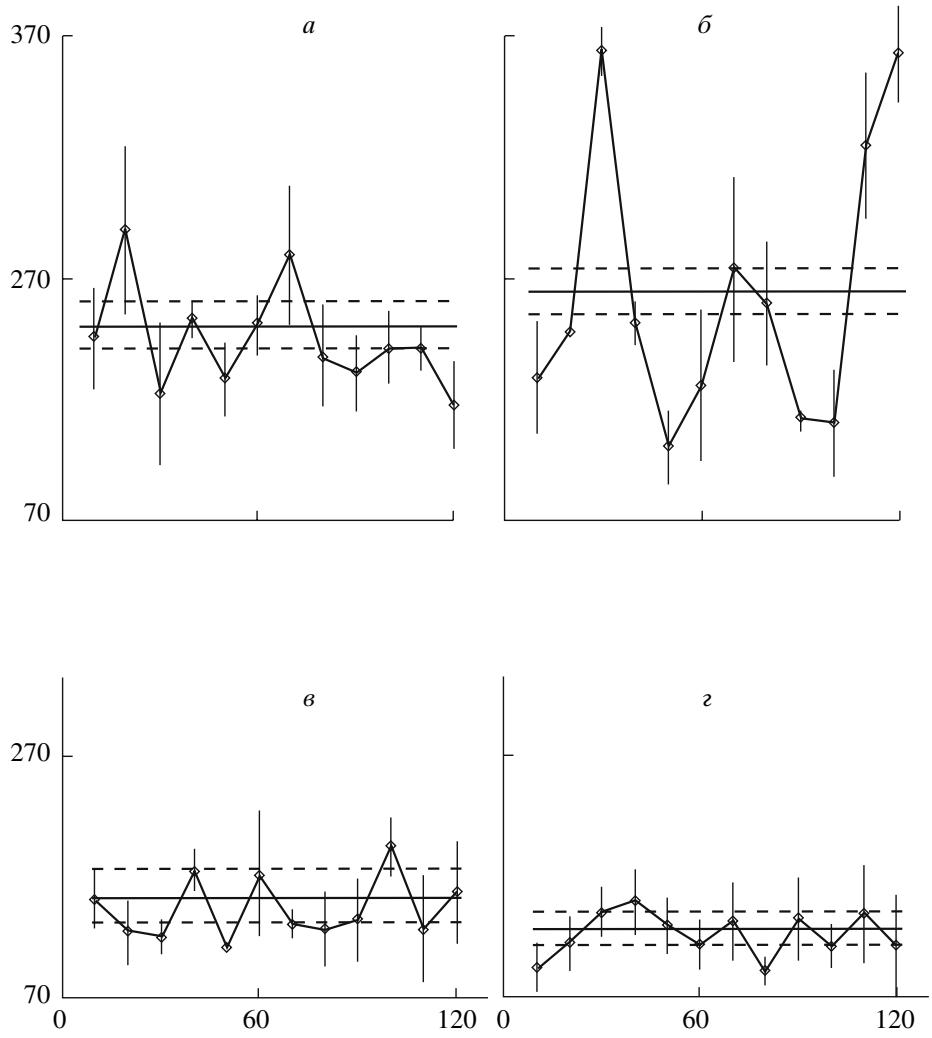

Рис. 2. Исследование синхронизирующего ритм синтеза белка эффекта α_1-адреномиметика фенилэфрина на фоне α_1-адренолитика беноксатиана в разреженных культурах гепатоцитов: *а* – контроль: односуточные культуры отмыты и инкубированы 30 мин в свежей среде, вновь отмыты и инкубированы 15 мин в новой свежей среде с последующим взятием проб из этой среды; *б* – культуры отмыты и инкубированы 30 мин в среде, куда на 2 мин (от 28 до 30 мин) внесен фенилэфрин до финальной концентрации 2 мкМ, после чего культуры отмыты и инкубированы 15 мин в свежей нормальной среде с последующим взятием проб из этой среды; *в* – инкубация 30 мин в среде с беноксатианом (0.35 мкМ), отмывка, инкубация 15 мин в свежей среде с беноксатианом с последующим взятием проб из той же среды; *г* – инкубация 30 мин в среде с беноксатианом, куда на 2 (от 28 до 30 мин) внесен ферилэфрин до финальной концентрации 2 мкМ, затем культуры отмыты и инкубированы 5 мин в среде с беноксатианом с последующим взятием проб из той же среды.

женных культурах ритм синтеза белка, как обычно, не выявлялся. На таких культурах фенилэфрин (2 мкМ, 2 мин), так же как было показано и ранее, синхронизировал колебания синтеза, и ритм регистрировался. В среде с беноксатианом (рис. 2) или празозином (рис. 3) фенилэфрин не организовывал ритм. Сами адренолитики на кинетику синтеза белка не влияли: все точки 2-часовой кривой достоверно не отличались друг от друга и от общей средней для всего опыта.

Норадреналин, как и его фармакологический аналог фенилэфрин, синхронизировал разреженные культуры, при этом ритм наблюдали (рис. 4). Вместе с α_1-адренолитиком беноксатианом норадреналин синхронизировал культуры слабее: 10–30-минутный максимум достоверно отличался от 40-минутного минимума, а последний от нового максимума на 80–100 мин, однако четкий ритм в этом случае не выявлялся. В отличие от α_1-адреномиметика фенилэфрина норадреналин связывается

как с α-, так и с β-адренорецепторами. В какой мере синхронизирующая функция норадреналина зависит от β-рецепции?

Для проверки гипотезы сначала изучили действие изопротеренола (изопреналина) – другого, кроме фенилэфрина, синтетического деривата норадреналина, но β-адреномиметика. Известно, что изопротеренол, так же как фенилэфрин и норадреналин, действует в качестве агониста цитоплазматического кальция (Chin et al., 1988; Sanae et al., 1989; McLeod et al., 2001; Wang et al., 2003; Curran et al., 2007), что, по нашим данным (Бродский и др., 2006б), активирует протеинкиназы – ключевые организаторы ритма синтеза белка. Изопротеренол в дозах 10 или 20 мкМ синхронизировал разреженные культуры, ритм синтеза белка выявлялся (рис. 5) в отличие от контрольных разреженных культур. β-Адренолитик пропранолол отменял синхронизирующий эффект изопротеренола.

В среде с α_1- и β-адренолитиками (празозином и пропранололом) норадреналин не синхронизировал разреженные культуры: кинетика синтеза белка не была ритмической (рис. 6). В контроле, как обычно, ритм не выявлялся. При том же среднем уровне синтеза белка в опыте с норадреналином был виден четкий ритм. В среде с празозином и пропранололом норадреналин не организовывал ритм: все точки 2-часовой кривой входили в пределы ошибки средней для всего опыта, хотя 60-минутное значение отличалось от 70-минутного, но не от 80–100-минутных, а 70-минутный "максимум" не отличался от всех последующих точек, в целом кинетика не была ритмической.

Блокирование α_1-рецепторов не препятствует синхронизирующей функции ганглиозидов, что косвенно следовало из результатов одного опыта

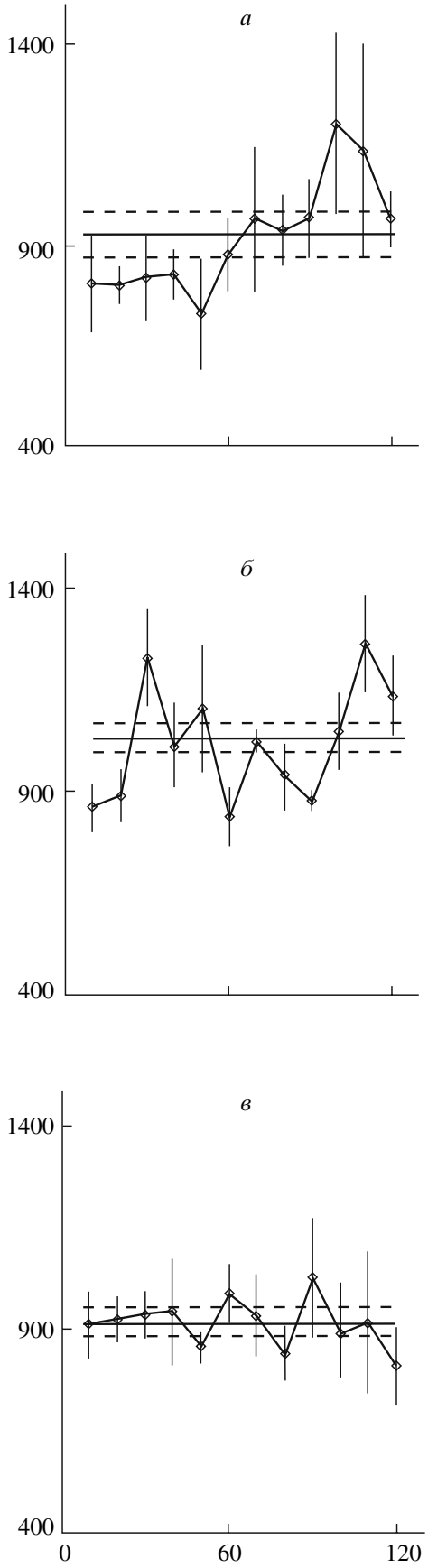

Рис. 3. Исследование синхронизирующего ритм синтеза белка эффекта α_1-адреномиметика фенилэфрина на фоне α_1-адренолитика празозина в разреженных культурах гепатоцитов: *а* – контроль: отмытые односуточные культуры инкубированы 30 мин в свежей среде, отмыты, инкубированы еще 30 мин с последующим взятием проб из той же среды; *б* – инкубация 30 мин в среде, куда на 2 мин (от 28 до 30 мин) внесен фенилэфрин до финальной концентрации 2 мкМ, затем культуры отмыты и перенесены в нормальную свежую среду, откуда через 30 мин взяты пробы; *в* – инкубация 30 мин в среде с празозином (0.15 мкМ), туда же на 2 мин (от 28 до 30 мин) внесен фенилэфрин до финальной концентрации 2 мкМ, отмывка, инкубация 30 мин в среде с празозином с последующим взятием проб из той же среды.

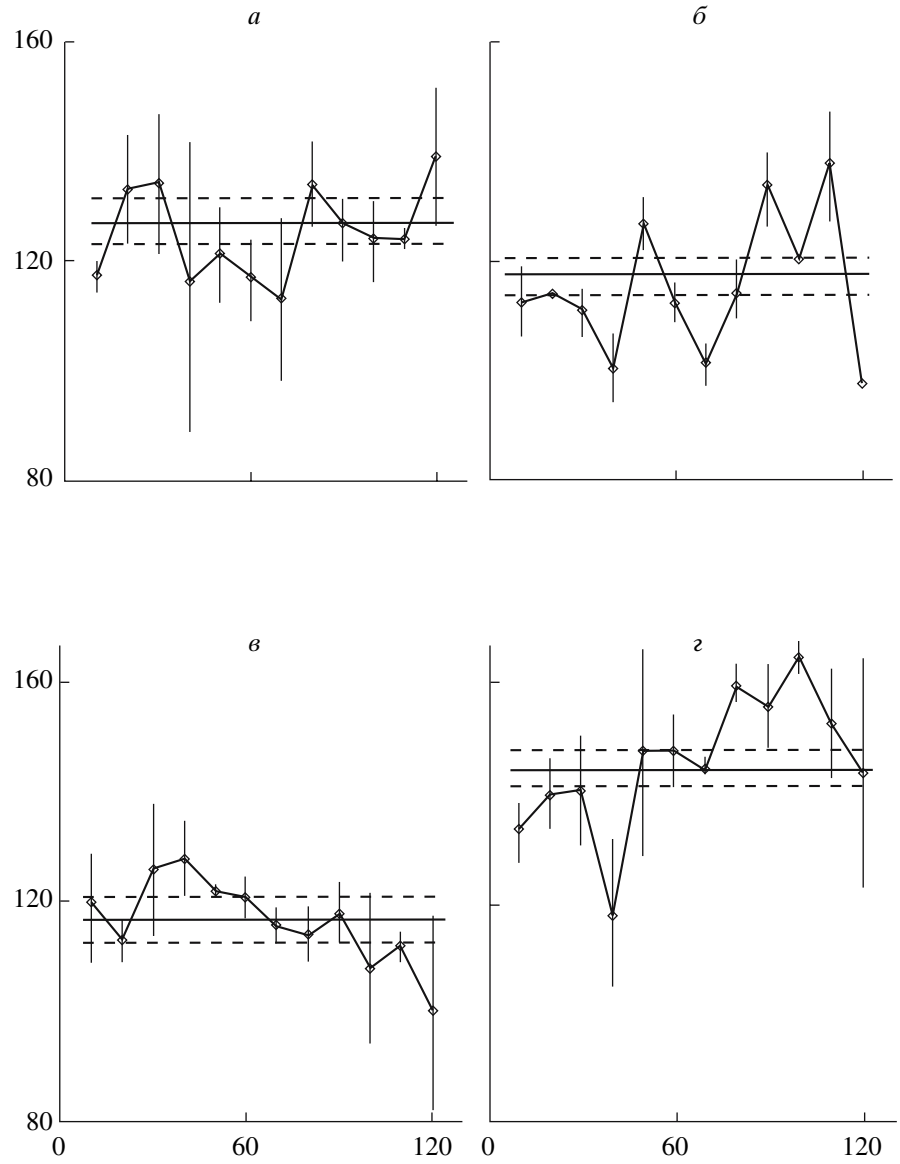

Рис. 4. Исследование синхронизирующего ритм синтеза белка эффекта норадреналина на фоне α_1-адренолитика беноксатиана в разреженных культурах гепатоцитов.

а – контроль: отмытые односуточные культуры инкубированы 30 мин в нормальной среде, вновь отмыты и инкубированы 30 мин в свежей нормальной среде с последующим взятием проб из той же среды; *б* – инкубация 30 мин в среде, куда на 10 мин (от 20 до 30 мин) внесен норадреналин до финальной концентрации 20 мкМ, отмывка, инкубация 30 мин в свежей среде с последующим взятием проб из той же среды; *в* – инкубация 30 мин в среде с беноксатианом (0.35 мкМ), отмывка, инкубация 30 мин в свежей среде с беноксатианом с последующим взятием проб из той же среды; *г* – инкубация 30 мин в среде с беноксатианом, туда же на 10 мин (от 20 до 30 мин) внесен норадреналин до финальной концентрации 0.35 мкМ, отмывка, инкубация 30 мин в свежей среде с беноксатианом с последующим взятием проб из той же среды.

(рис. 1, *б*) и прямо показано в другом (рис. 7). Один празозин не менял кинетику синтеза белка в разреженных культурах, как обычно, не ритмическую. В среде с празозином ганглиозиды сихронизировали такие культуры, и ритм синтеза белка выявлялся.

Таким образом, показано, что различные агонисты кальция, такие как ганглиозиды и катехоламины, функционируют как сигнальные молекулы независимо друг от друга. Другой вывод – α- и β-адреномиметики осуществляют синхронизи-

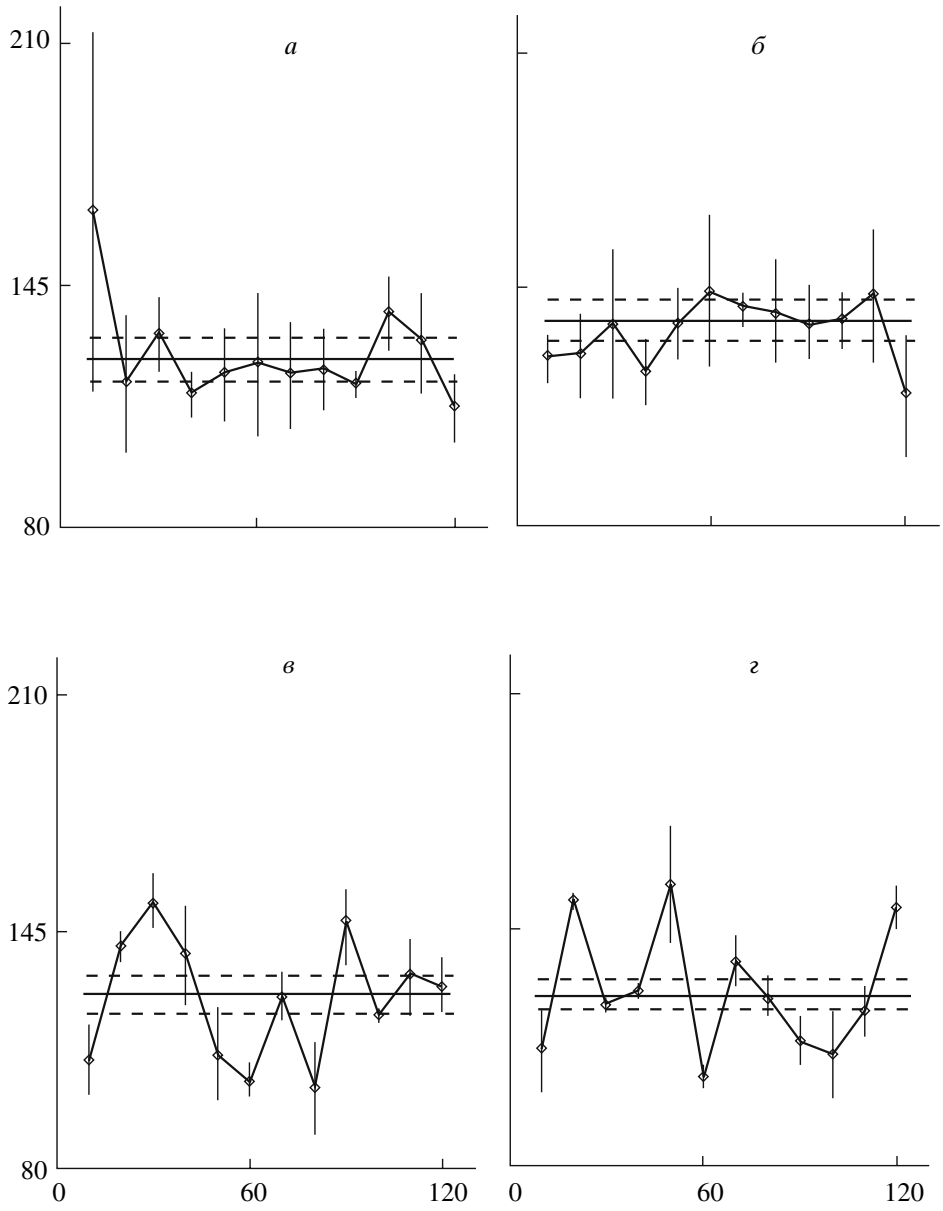

Рис. 5. Исследование синхронизирующего ритм синтеза белка эффекта β-адреномиметика изопротеренола и блокирование его эффекта β-адренолитиком пропранололом в разреженных культурах гепатоцитов: *а* – контроль: отмытые культуры инкубированы 40 мин в нормальной среде, отмыты, инкубация 15 мин в свежей среде, отмыты, инкубированы 15 мин в новой свежей среде с последующим взятием проб из той же среды; *б* – инкубация 40 мин в среде с пропранололом (20 мкМ), отмывка, инкубация 15 мин в свежей среде с пропранололом, куда на 15 мин внесен изопротеренол до финальной концентрации 10 мкМ, отмывка, инкубация 15 мин в среде с пропранололом (20 мкМ) с последующим взятием проб из той же среды; *в* – инкубация 40 мин в нормальной среде, отмывка, инкубация 15 мин в среде, куда внесен изопротеренол до финальной концентрации 20 мкМ, отмывка, инкубация 15 мин в свежей нормальной среде с последующим взятием проб из той же среды; *г* – то же, но в концентрации изопротеренола 10 мкМ.

рующую функцию, связываясь со специфическими рецепторами гепатоцитов. В культуре гепатоцитов эндогенным синхронизатором являются, скорее всего, только ганглиозиды. В условиях организма гепатоциты могут воспринимать сигналы как ганглиозидов, так и норадреналина, имеющихся в сыворотке крови – естественной межклеточной среде.

Некоторые дериваты норадреналина используются в медицине как лекарства, продолжение их изучения может быть перспективным в выяснении биохимического механизма действия таких

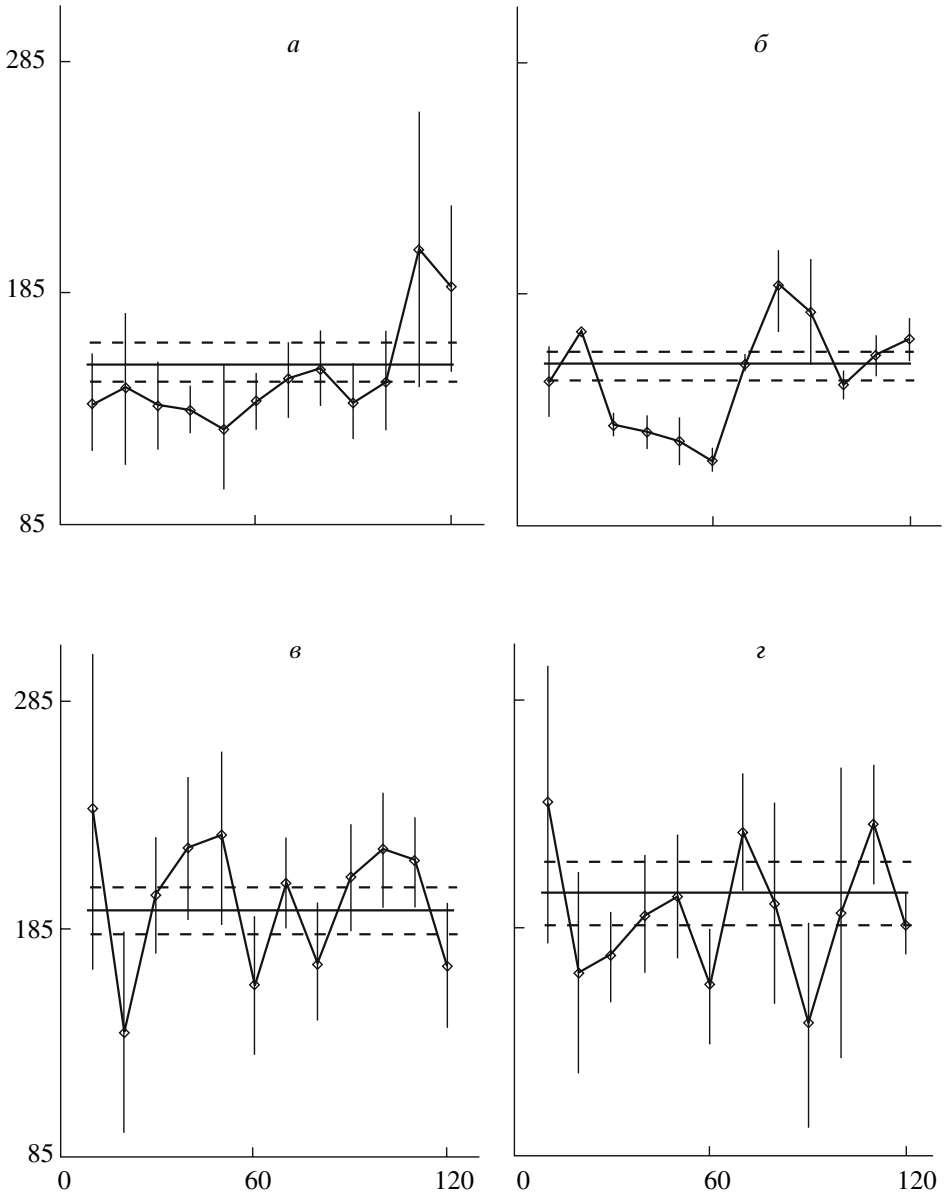

Рис. 6. Исследование синхронизирующего ритм синтеза белка эффекта норадреналина (15 мкМ) на фоне смеси α_1-адренолитика празозина (0.15 мкМ) и β-адренолитика пропранолола (20 мкМ) в разреженных культурах гепатоцитов: *а* – контроль: отмытые культуры инкубированы 30 мин в свежей среде, отмыты, инкубированы 25 мин в новой свежей среде, отмыты, инкубированы 20 мин в новой среде с последующим взятием проб из той же среды; *б* – инкубация культур 30 мин в нормальной среде, отмывка, инкубация 25 мин в среде, куда на 15 мин (от 10 до 25 мин) внесен норадреналин до финальной концентрации 15 мкМ, отмывка, инкубация 20 мин в нормальной среде с последующим взятием проб из той же среды; *в* – инкубация 30 мин в среде со смесью празозина (0.15 мкМ) и пропранолола (20 мкМ), отмывка, инкубация 25 мин в среде со смесью празозина и пропранолола, отмывка, инкубация 20 мин в новой среде со смесью празозина и пропранолола с последующим взятием проб из той же среды; *г* – инкубация 30 мин в среде со смесью празозина и пропранолола, отмывка, инкубация 25 мин в среде со смесью празозина и пропранолола, куда на 15 мин (от 10 до 25 мин) внесен норадреналин до финальной концентрации 15 мкМ, отмывка, инкубация 20 мин в среде со смесью празозина и пропранолола с последующим взятием проб из той же среды.

лекарств. Используются как α- так и β-адреномиметики; возможный эффект их действия заключается в запуске цепи цитоплазматических процессов, начинающихся в выбросе ионов кальция из клеточных депо с последующей стимуляцией активности протеинкиназ (Бродский и др., 2006б). Ранее такая возможность никем не рассматривалась. Изучение механизмов действия лекарств,

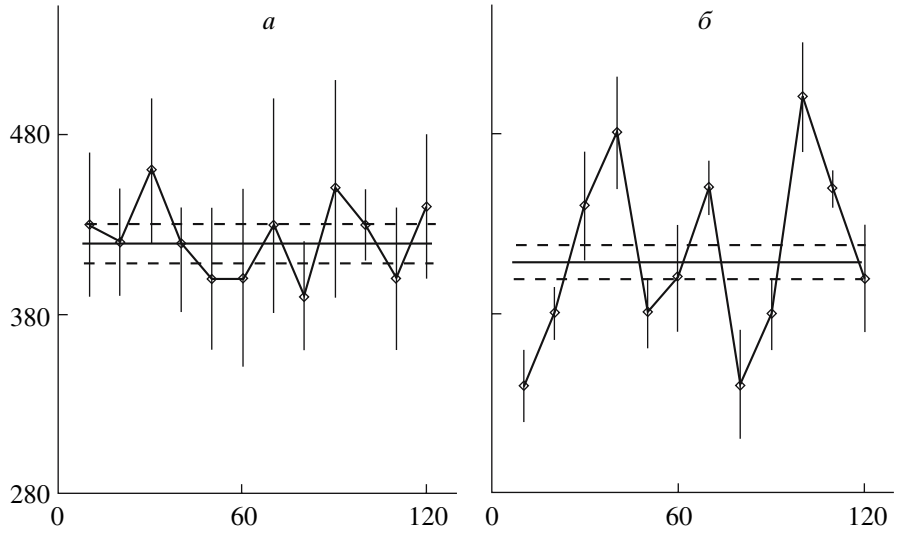

Рис. 7. Исследование синхронизирующего ритм синтеза белка эффекта ганглиозидов (суммарный препарат из мозга быка) на фоне α_1-адренолитика празозина (0.15 мкМ) в разреженных культурах гепатоцитов: *а* – отмытые разреженные культуры инкубированы 30 мин в среде с празозином, после чего из этой среды взяты пробы для определения кинетики синтеза белка; *б* – такие же культуры инкубированы 30 мин в среде с празозином, куда сразу же в начале инкубации добавлены ганглиозиды до финальной концентрации 0.3 мкМ, через 30 мин из этой среды взяты пробы.

агонистов кальция, может стать определенным вкладом фундаментальной биологии в медицину.

Авторы благодарят профессора Б.Н. Манухина за помощь при обсуждении материала и ценные замечания по тексту статьи.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

Бродский В.Я., Нечаева Н.В., Звездина Н.Д. и др. Синхронизация ритма синтеза белка в культурах гепатоцитов происходит при кондиционировании среды с накоплением ганглиозида GM1 в клетках: иммуноцитохимическое исследование // Изв. АН. Сер. биол. 1997. № 4. С. 389–399.

Бродский В.Я., Нечаева Н.В., Звездина Н.Д. и др. Возрастные особенности ритма синтеза белка в гепатоцитах. Влияние межклеточной среды // Онтогенез. 2005. Т. 36. № 1. С. 9–17.

Бродский В.Я., Нечаева Н.В., Звездина Н.Д. и др. Последействие синхронизаторов ритма синтеза белка в гепатоцитах *in vitro* // Там же. 2006а. Т. 37. № 1. С. 63–65.

Бродский В.Я., Звездина Н.Д., Фатеева В.И., Мальченко Л.А. Механизм прямых межклеточных взаимодействий. Самоорганизация ритма синтеза белка // Там же. 2006б. Т. 37. № 5. С. 384–393.

Звездина Н.Д., Нечаева Н.В., Грачева Е.В. и др. Нарушение кооперации гепатоцитов в ритме синтеза белка хелатором цитоплазматического кальция ВАРТА-АМ // Изв. АН. Сер. биол. 2003. № 1. С. 14–19.

Прозоровская М.П. Возрастные изменения в адреналин/норадренолиновом отношении в тканях крысы // Физиол. журнал СССР. 1983. Т. 69. С. 1244–1246.

Brodsky V.Y., Nechaeva N.V., Zvezdina N.D. et al. Gangliodide-mediated synchronization of the protein synthesis rhythm in cultured hepatocytes // Cell Biol. Internat. 2000. V. 24. P. 211–222.

Brodsky V.Y., Zvezdina, N.D., Nechaeva N.V et al. Calcium ions as a factor of cell-cell cooperation in hepatocyte cultures // Ibid. 2003. V. 27. P. 965–976.

Brodsky V.Y., Zvezdina N.D., Fateeva V.I., Malchenko L.A. Involvement of protein kinases in self-organization of the protein synthesis rhythm by direct cell-cell communication // Ibid. 2007. V. 31. P. 65–73.

Chin K.V., Cade C., Brostrom M.A., Brostrom C.O. Regulation of protein synthesis in intact rat liver by calcium mobilizing agents // Int. J. Biochem. 1988. V. 20. P. 1313–1319.

Curran J., Hinton M.J., Rios E. et al. β-Adrenergic enhancement of sarcoplasmic reticulum calcium leak in cardiac myocytes is modulated by calcium/calmodulin-dependent protein kinase // Circ. Res. 2007. V. 100. № 3. P. 296–298.

Li R., Ladisch S. Abrogation of shedding of immunosuppressive neuroblastoma gangliosides // Cancer Res. 1996. V. 56. P. 4602–4605.

Li R., Ladisch S. Inhibition of endogenous ganglioside synthesis does not block neurite formation by retinoic acid-treated neuroblastoma cells // J. Biol. Chem. 1997. V. 272. P. 1349–1354.

McLeod L.E., Wang L., Proud C.G. β-Adrenergic agonists increase phosphorylation of factor 2 in cardiomyocytes // FEBS Lett. 2001. V. 489. № 2–3. P. 225–228.

Nakamura Y., Hishimoto Y., Yamakawa T., Suzuki A. Age-dependent changes in GM1 and GD1a expression in mouse liver // J. Biochem. 1993. V. 103. P. 396–398.

Olshefski R., Ladisch S. Synthesis, shedding, and intracellular transfer of human medulloblastoma gangliosides: abroga-

tion by a new inhibitor of glycosylceramide synthase // J. Neurochem. 1998. V. 70. P. 467–472.

Ozkok E., Cendiz S., Guevener B. Age-dependent changes in liver ganglioside levels // J. Basic. Clin. Physiol. Pharmacol. 1999. V. 10. P. 337–344.

Sanae F., Miyamoto K., Koshiura R. Altered adrenergic response and specificity of the receptors in rat ascites hepatoma AH130 // Cancer Res. 1989. V. 49. P. 6242–6246.

Wang L., Rolfe M., Proud C.G. Ca^{2+}-independent protein kinase C activity is required for alfa-adrenergic-receptor-mediated regulation of ribosomal protein S6 kinases in adult cardiomyocytes // Biochem. J. 2003. V. 373. Pt. 2. P. 603–611.

Wen Deng, Li R., Ladisch S. Influence of cellular ganglioside depletion on tumor formation // J. Nat. Cancer Inst. 2000. V. 92. P. 912–917.

Signaling Factors of Self-Organization of Protein Synthesis Rhythm in Hepatocyte Cultures—Gangliosides and Catecholamines Function Independently

N. D. Zvezdina, L. A. Mal'chenko, V. I. Fateeva, and V. Ya. Brodsky

Kol'tsov Institute of Developmental Biology, Russian Academy of Sciences, ul. Vavilova 26, Moscow, 119334 Russia
e-mail: brodsky.idb@bk.ru

Abstract—Considering the data on the low level of self-organization (self-synchronization) of protein synthesis rhythm in aging, we studied the possible interference of the signaling factors of self-organization, gangliosides and catecholamines, as well as catecholamine reception. Experiments were carried out on primary cultures of rat hepatocytes on slides. Inhibited ganglioside synthesis did not prevent the organization of protein synthesis rhythm by the α-adrenomimetic agent phenylephrine. Upon the blockade of α-receptors by prazosin, the protein synthesis rhythm was observed after the exposure to gangliosides. α-Adrenolytic agents prazosin and benoxathian abolished the synchronizing effect of the β-adrenomimetic isoproterenol. A mixture of α- and β-adrenomimetic agents inhibited the protein synthesis rhythm-organizing effect of noradrenaline. Thus, the signaling molecules of self-organization of protein synthesis function independently via specific receptors.

Key words: cell–cell interactions, intercellular cooperation, cell self-organization, self-organization of protein synthesis rhythm, hepatocytes, gangliosides, noradrenaline, phenylephrine, isoproterenol, adrenolytic agents.