

УДК 577

И.В.Огнева (асп., каф. ФХОМ), В.О.Самойлов, д.м.н., проф., чл.-корр. РАМН

РЕЗУЛЬТАТЫ ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОГО АНАЛИЗА ПОДВИЖНОСТИ ОБОНЯТЕЛЬНЫХ ЖГУТИКОВ

Обонятельные жгутики являются хемочувствительными структурами обонятельных клеток. Однако роль их двигательной активности до сих пор остается не совсем понятной. Практически отсутствуют данные и о механизме ее энергообеспечения. Поэтому целью данной работы было изучение механизма энергообеспечения подвижности обонятельных жгутиков в различных условиях и влияния одорантов на характер их движений.

Механизм энергообеспечения двигательной активности обонятельных жгутиков в отсутствие одорантов. Действие азидата натрия в концентрации 10^{-2} М и ротенона в концентрации 10^{-5} М приводило к остановке движения большинства обонятельных жгутиков в среднем через 80 с и 16 с, соответственно, после введения агентов в среду с препаратом, при этом действие ротенона было необратимым в отличие от азидата натрия. Полученные достоверные отличия в латентном периоде реакции жгутиков на азид натрия и ротенон объясняются тем, что данные агенты действуют на различные звенья дыхательной цепи.

Другой подход к ингибированию синтеза АТФ был реализован посредством разобщения в митохондриях окисления и фосфорилирования. 2,4-динитрофенол в концентрации 10^{-4} М полностью подавлял двигательную активность обонятельных жгутиков в среднем через 45 с, а FCCP в концентрации 10^{-5} М – примерно через 14 с после введения в среду с препаратом. Подвижность жгутиков не восстанавливалась при удалении 2,4-динитрофенола или FCCP из среды. FCCP действует более специфично, что объясняет меньший латентный период остановки жгутиков под его воздействием, нежели при действии 2,4-динитрофенола.

Таким образом, подавление энергетического обмена митохондрий (синтеза АТФ) за счет разобщения окисления и фосфорилирования 2,4-динитрофенолом, FCCP или ингибирования переноса электронов в дыхательной цепи азидом натрия и ротеноном приводило к остановке обонятельных жгутиков. Следовательно, двигательная активность обонятельных жгутиков у *Rana temporaria* в отсутствие одорантов обеспечивается АТФ, синтезируемым митохондриями.

Влияние одорантов на характер подвижности обонятельных жгутиков. Действие амилового спирта, камфары, цинеола, этилового спирта, амилацетата, ванилина и кедрового бальзама на препарат в отсутствие ингибиторов синтеза АТФ не приводило к заметному изменению двигательной активности обонятельных жгутиков. Возможно, результат введения одорантов в среду был гораздо меньше, чем основная причина движений жгутиков, а потому и не фиксирован визуально.

Действие 2-меркаптоэтанола на подвижность обонятельных жгутиков было противоположным действию раствора аммиака. 2-меркаптоэтанол замедлял скорость движений жгутиков примерно в 1,5 – 2 раза. Причем, около 30% жгутиков каждого из рассмотренных препаратов вообще переставали двигаться. Скорее всего, данный эффект связан с химическими свойствами 2-меркаптоэтанола. Согласно гипотезе, предложенной L.Turin (1996), связь молекулы рецептора и G-белка осуществляется за счет дисульфидного мостика. Известно, что 2-меркаптоэтанол поддерживает SH-группы белков, препятствуя образованию дисульфидных связей. Возможно, эффект замедления и последующей остановки обонятельных жгутиков при действии 2-меркаптоэтанола связан с тем, что

рецептор не может связаться с G-белком, что препятствует нормальной трансдукции стимула.

Водный раствор аммиака вызывает активацию двигательной активности обонятельных жгутиков, заключающуюся в увеличении скорости движения примерно в два раза. Возрастание скорости движения жгутиков наблюдалось на всей протяженности препарата и имело временный характер. Данный эффект не может быть связан с защелачиванием среды, поскольку в ходе экспериментов измеряли рН среды и сравнивали полученное значение с контрольным. Повышение концентрации водного раствора аммиака приводит к более продолжительному увеличению подвижности обонятельных жгутиков. Это объясняется, по-видимому, тем, что являясь сильным окислителем, аммиак стимулирует образование дисульфидных связей между белком-рецептором и G-белком, действуя, таким образом, противоположно 2-меркаптоэтанола, что, в свою очередь, приводит к уменьшению времени трансдукции и более активной реакции жгутиков на этот стимул.

Механизм энергообеспечения двигательной активности обонятельных жгутиков при действии различных одорантов. Воздействие стимулом (амиловым спиртом, камфарой, цинеолом, этиловым спиртом, амилацетатом, ванилином и кедровым бальзамом) на фоне действия азида натрия или ротенона (в зависимости от серии экспериментов) вело к инициации двигательной активности жгутиков. Следует отметить, что в движение приходили не все жгутики на препарате, наблюдалась топографическая организация обонятельной выстилки. Двигательная активность была временной и через некоторый промежуток времени исчезала. При увеличении концентрации одоранта область, в которой возникали движения жгутиков, не увеличивалась, а возрастало время подвижности жгутиков. Кроме того, активность жгутиков при воздействии стимула и отсутствии АТФ, синтезируемого митохондриями, имела упорядоченный характер. Направление перемещения жгутиков зависело от направления подачи одоранта: жгутики начинали активно отклоняться в сторону, с которой был подан одорант. Принципиальных отличий в реакции жгутиков на вышеназванные одоранты не наблюдалось, за исключением продолжительности движения жгутиков и количества областей на обонятельной выстилке, которые отвечают на данный стимул.

При действии 2-меркаптоэтанола на препарат на фоне азида натрия и ротенона двигательная активность жгутиков не отмечалась. Увеличение концентрации этого стимула ощутимого эффекта не давало.

При воздействии раствором аммиака на фоне действия азида натрия или ротенона появлялась двигательная активность обонятельных жгутиков на всем препарате, которая была значительно более интенсивной, нежели при действии других одорантов. Движения жгутиков также становились более упорядоченными. На стимуляцию раствором аммиака отвечали все жгутики на всех препаратах.

Появление в среде одоранта на фоне действия FCCP или 2,4-динитрофенола, в отличие от азида натрия и ротенона, не вызывало инициации подвижности жгутиков. Таким образом, на фоне агентов, ингибирующих перенос электронов по дыхательной цепи, движение обонятельных жгутиков под действием одорантов иницируется, а на фоне протонофорных агентов – нет. В связи с этим, было выдвинуто предположение, что в дополнительном механизме, обеспечивающем синтез АТФ при действии одорантов, присутствует H^+ -АТФсинтаза, локализованная вне митохондрий.

С целью проверки высказанного предположения H^+ -АТФсинтаза была ингибирована олигомицином в концентрации 1 мкг/мл. Двигательная активность жгутиков под действием олигомицина прекращалась и не восстанавливалась под действием различных одорантов. Это дает основания утверждать, что источником АТФ при действии стимула является H^+ -АТФсинтаза, локализованная вне митохондрий.