

784-8/
1978/2



BIOLOGICAL SERIES

საქართველოს სსრ მეცნიერებათა აკადემიის მაცნე
ИЗВЕСТИЯ АКАДЕМИИ НАУК ГРУЗИНСКОЙ ССР
PROCEEDINGS OF THE ACADEMY OF SCIENCES
OF THE GEORGIAN SSR

ბიოლოგიის
სერია
СЕРИЯ
БИОЛОГИЧЕСКАЯ

1978 N 4 • თბილისი • 3 მად
T B I L I S I • T O M
V O L.

4

СПИСОК РАЗДЕЛОВ БИОЛОГИИ,
ПО КОТОРЫМ ПРИНИМАЮТСЯ СТАТЬИ

Теоретическая биология
Физиология человека и животных (норм. и патол.)
Морфология
 Анатомия
 Эмбриология и гистология
 Цитология
 Патологическая морфология
Биохимия
Фармакология
Ботаника (экспер. и теорет.)
Физиология растений
Зоология (экспер. и теорет.)
Энтомология
Паразитология
Гельминтология
Палеобиология
Биогеоценология
Экология
Микробиология
Вирусология
Иммунология
Генетика
Радиобиология
Биофизика
Молекулярная биология
Бионика и биокибернетика

საქართველოს სსრ მეცნიერებათა აკადემიის მაცნე
ИЗВЕСТИЯ АКАДЕМИИ НАУК ГРУЗИНСКОЙ ССР



ბიოლოგიის სერია СЕРИЯ БИОЛОГИЧЕСКАЯ

ტომი 4, № 4
Том

ჟურნალი დაარსებულია 1975 წელს
Журнал основан в 1975 году

გამოდის წელიწადში 6-ჯერ
Выходит 6 раз в год

გამომცემლობა „მეცნიერება“ • თბილისი • 1978
ИЗДАТЕЛЬСТВО „МЕЦНИЕРЕБА“ • ТБИЛИСИ

10651

სარედაქციო კოლეგია:

მთავარი რედაქტორი ვ. ოკუჯავა
მთავარი რედაქტორის მოადგილე თ. ონიანი
სწავლული მდივანი გ. ბეკაია

ლ. გაბუნია, ს. ღურმეზიძე, მ. ჯაალიშვილი, გ. თუმანიშვილი, ი. თუმაჯანოვი,
გ. კანდელაკი, ნ. კეცხოველი, კ. ნადარეიშვილი, პ. კომეთიანი, ბ. ყურაშვილი,
ნ. ძიძიშვილი, თ. ჭანიშვილი, შ. ჭანიშვილი, ნ. ჭავჭავაძე
პასუხისმგებელი მდივანი ს. ლაბაძე

РЕДАКЦИОННАЯ КОЛЛЕГИЯ:

Главный редактор В. М. Окужава
Зам. главного редактора Т. Н. Ониани
Ученый секретарь Г. Л. Бекая

Л. К. Габуния, Н. А. Джавахишвили, Н. Н. Дзидзишвили, С. В. Дурмишидзе,
М. М. Заалишвили, Г. В. Канделаки, Н. Н. Кецховели, П. А. Кометиани,
Б. Е. Курашвили, К. Ш. Надарейшвили, И. И. Тумаджанов, Г. Д. Туманишвили,
Т. Г. Чанишвили, Ш. Ф. Чанишвили
Ответственный секретарь С. Р. Лабадзе

EDITORIAL BOARD:

Editor-in-Chief V. M. Okujava
Associate Editor T. N. Oniani
Editorial Secretary G. L. Bekaya
Sh. F. Chanishvili, T. G. Chanishvili, N. A. Djavakhishvili, S. V. Durmishidze,
N. N. Dzidzishvili, L. K. Gabunia, G. V. Kandelaki, N. N. Ketskhoveli,
P. A. Kometiani, B. E. Kurashvili, K. Sh. Nadareishvili, I. I. Tumanjanov,
G. D. Tumanishvili, M. M. Zaalishvili
Executive Secretary S. R. Labadze

СОДЕРЖАНИЕ — შობასარი — CONTENTS

T. D. Javrišvili. О компонентах вызванного потенциалом соматосенсорной коры в постнатальном онтогенезе	293
თ. ჯავრიშვილი. სომატოსენსორული პერქის გამოწვეული პოტენციალის კომპონენტების შესახებ პოსტნატალურ ონტოგენეზში	
T. D. Javrišvili. On evoked potential components of somatosensory cortex in postnatal ontogenesis	
H. P. Kiknadze. Влияние ионизирующего излучения на динамику электрической активности некоторых структур головного мозга в цикле бодрствования — сон	299
ხ. კიკნაძე. მაიონიზირებელი გამოსხივების გავლენა თავის ტვინის ზოგიერთი სტრუქტურის ელექტრული აქტივობის დინამიკაზე ძილ-ღვიძილის ციკლში	
N. R. Kiknadze. influence of ionizing radiation on the dynamics of electrical activity of some brain structures in the wakefulness-sleep cycle	
D. Sh. Beniashvili. Видовая чувствительность к реализации бластогенного эффекта метилнитрозомочевины при изменении реактивности организма, вызванном органоспецифической иммунизацией животных	308
დ. ბენიასვილი. სახეობრივი მგრძობელობა მეთილნიტროზომარდოვანას ბლასტომოგენური ეფექტის რეალიზაციისადმი, ცხოველთა ორგანოსპეციფიკური იმუნოზაციით გამოწვეული ორგანიზმის რეაქტიულობის ცვლილებისას	
D. Sh. Beniashvili. The species sensibility to the realization of methylnitrosourine blastomogenic effect under organo-specific immunisation induced changes of the organism reaction	
A. V. Khuchua. Количественные морфологические изменения нервных и невроглиальных клеток ганглионарного слоя коры мозжечка собаки после клинической смерти	315
ა. ხუჭუა. ძაღლის ნახეობის განვლიური შრის ნერვული და ნეიროგლიური უჯრედების რაოდენობრივი მორფოლოგიური ცვლილებები კლინიკური სიკვდილის შემდეგ	
A. V. Khuchua. Quantitative morphological changes in the nerve and neuroglial cells of ganglionic layer of the dog's cerebellar cortex after clinical death	
Z. G. Grigorashvili, A. A. Gogoli, N. M. Kharadze, G. Z. Grigorashvili, L. S. Chezhia, N. L. Zakharova. Изучение возможности образования канцерогенных N-нитрозосоединений у крыс при пероральном введении пиперазина и нитрита	322
ზ. გრიგორაშვილი, ა. ა. გოგოლი, ნ. მ. ხარაძე, გ. გრიგორაშვილი, ლ. ს. ჩეჯია, ნ. ლ. ჯაჩაროვა. კანცეროგენული N-ნიტროზომენაერთების წარმოქმნის შესაძლებლობის შესწავლა ვირთაგვებში, პიპერაზინისა და ნატრიუმის ნიტრიტის პერორალურად მიღების შედეგად	
Z. G. Grigorashvili, A. A. Gogoli, N. M. Kharadze, G. Z. Grigorashvili, L. S. Chezhia, N. L. Zakharova. Studies on the possibility of formation of cancerogenic N-nitroso compounds in rats with peroral administration of piperazine and sodium nitrite	
C. V. Durmishidze, M. Sh. Gordeziani, E. A. Bobokhidze. Влияние холестерина на некоторые ферментные системы растительной клетки	327
ს. დურმიშიძე, მ. შორდეზიანი, ე. ა. ბობოხიძე. ქოლესტეროლის გავლენა მცენარეული უჯრედის ზოგიერთი ფერმენტული სისტემის აქტივობაზე	
S. V. Durmishidze, M. Sh. Gordeziani, E. A. Bobokhidze. Effect of cholesterol on the activity of some plant cell enzymatic systems	
H. I. Oniashvili, K. N. Pataraia. Возрастные особенности нарушения углеводного баланса крови на фоне аллоксанового сахарного диабета	335
ხ. იონიასვილი, კ. ნატარაია. სისხლის ნახშირწყლების ბალანსის დარღვევის ასაკობრივი თავისებურებანი ალოქსანიით გამოწვეული შაქრიანი დიაბეტის ფონზე	

N. J. Oniashvili, K. N. Patarai. The effect of age on the disturbance of blood sugar balance during alloxan diabetes

Э. Н. Кецохели. Антоциановые пигменты корней некоторых древесных растений 341

ე. კეცოხელი. ზოგიერთი მერქნიანი მცენარის ფესვების ანთოციანური პიგმენტები

E. N. Ketskhoveli. Anthocyan pigments of the root in some woody plants

З. И. Алавидзе, Т. Г. Чанишвили. Изучение частоты образования фагоустойчивых форм *E. coli* M₇ 350

ზ. ალავიძე, თ. ჯანიშვილი. *E. coli* M₇-ის ფაგორეზისტენტული ფორმების წარმოშობის სისწირის შესწავლა

Z. I. Alavidze, T. G. Chanishvili. Study of the formation rate of *E. coli* M₇ phage-stable forms

Д. Р. Каулен, С. А. Ригвава, Т. А. Голованова, Е. В. Мысякин, И. А. Георгадзе. Зависимость высвобождения Т-лимфоцитами фактора ингибции стволовых клеток от макрофагов 357

დ. კაულენი, ს. რიგვავა, ტ. გოლოვანოვა, ე. მისიაკინი, ი. გიორგაძე. Т-ლიმფოციტების მიერ ლერულ უჯრედთა ინჰიბიტორული ფაქტორის გამოყოფის დამოკიდებულება მაკროფაგებზე

D. R. Kaulen, S. A. Rigvava, T. A. Golovanova, E. B. Misyakin, I. A. Georgadze. Dependence of the stem-cell inhibitory factor release with T-lymphocytes on macrophages

Г. А. Тарашвили. Возможность использования метода сверхслабого свечения для исследования гамма-облученных растений 363

გ. თარაშვილი. უ-სხივებით დასხივებული მცენარეების გამოსაკვლევად ზესუსტი ნათების შეთოდის გამოყენების შესაძლებლობა

G. A. Tarashvili. The possibility of using very low intensity luminescence method in the investigation of gamma irradiated plants

Л. М. Шеварднадзе, М. В. Карселадзе. Влияние ионов меди на плавление комплексов ДНК-гистон 368

ლ. შევარდნაძე, მ. ქარსელაძე. სპილენძის იონების გავლენა დნმ-ჰისტონ კომპლექსების ლობაზე

L. M. Shevardnadze, M. V. Karseladze. The influence of copper ions on the melting of DNA-histone complexes

Я. И. Гонджилашвили, И. Г. Абулашвили. Исследование работы Na⁺, K⁺-АТФазной системы с помощью многомерного регрессионного анализа 376

ი. გონჯილაშვილი, ი. აბულაშვილი. Na⁺, K⁺-ატფაზური სისტემის მუშაობის გამოკვლევა მრავალგანზომილებიანი რეგრესიული ანალიზის დახმარებით

J. I. Gonjilashvili, I. G. Abulashvili. The investigation of Na⁺, K⁺-ATPase system by means of polynome regression system

Краткие сообщения

შოკლე წერილები

Short Communication

З. Ш. Ломтатидзе, Д. М. Анели. Антимикробные свойства некоторых соединений мышьяка 382

ზ. ლომთათიძე, ჯ. ანელი. ზოგიერთი დარიშხანოვანი ნერთის ანტიმიკრობული თვისებები

Z. Sh. Lomtavidze, J. M. Aneli. Antimicrobial properties of some arsenic compounds

УДК 612.82/83+577.95

ФИЗИОЛОГИЯ ЧЕЛОВЕКА И ЖИВОТНЫХ

О КОМПОНЕНТАХ ВЫЗВАННОГО ПОТЕНЦИАЛА СОМАТОСЕНСОРНОЙ КОРЫ В ПОСТНАТАЛЬНОМ ОНТОГЕНЕЗЕ

Т. Д. Джавришвили

Институт физиологии им. И. С. Бериташвили АН ГССР, Тбилиси

Поступила в редакцию 18.4.1977

В раннем периоде постнатального онтогенеза (1—10 дней) у наркотизированных котят исследовались компоненты вызванного потенциала (ВП) гверичной области соматосенсорной коры (C_1) на одиночные, парные и тетанические раздражения кожи. Было установлено, что в ответ на раздражение максимальной интенсивности (2—3 раза превышающей порог возникновения первого негативного компонента) в C_1 области коры новорожденного котенка возникают три основных компонента ВП — первый позитивный (P_1), первый негативный (N_1) и второй негативный (N_2) потенциалы. Функциональные свойства этих компонентов различны, на что указывают пороги возникновения, циклы угнетения — облегчения и чувствительность к частоте афферентной импульсации.

Сведений о сроках возникновения у кошек ВП соматосенсорной области неокортекса при периферических раздражениях в раннем периоде постнатального онтогенеза в литературе немного [15, 6, 7, 5, 9]. Большинство данных о гетерохронности компонентов ВП у котят касаются зрительного анализатора [11, 10, 12], а вопрос о гетерохронности ВП соматосенсорного анализатора больше исследован на кроликах [1, 2, 4]. Многие исследователи сходятся во мнении о наличии гетерохронности ВП соматосенсорной коры. По их данным некоторые компоненты ВП, выявляющиеся только лишь с увеличением возраста животного [6, 4, 5, 9], связаны с морфологическим развитием коры соответствующего анализатора.

В настоящей работе показано, что основные компоненты ВП соматосенсорной коры котенка (P_1 , N_1 и N_2) возникают не гетерохронно, а обнаруживаются с самого рождения животного, и что они функционально различны.

МЕТОДИКА

Опыты проводились на родившихся в лаборатории котятках в возрасте от 1 до 10 дней. Опыты велись под нембуталовым наркозом (2—4 мг на 100 г веса животного внутривенно). Голова котенка закреплялась в станок зажимами, предохраняющими мягкие ткани от травмы. В область головы подкожно вводился 0,5%-ный раствор новокаина. Для вызова потенциалов коры прямоугольными импульсами от стимулятора с радиочастотным выходом раздражали кожу передней лапы. ВП отводили от поверхности задней сигмовидной извилины



монополярно, посредством нитяного или серебряного хлорированного электрода с шарообразным кончиком, диаметром 0,25—0,5 мм. Индифферентный электрод помещался над фронтальным синусом или на мягких тканях шеи — ниже затылка. Контакт между индифферентным электродом и тканью осуществлялся посредством пасты с электролитом. Регистрация потенциалов велась на катодно-лучевом осциллографе и электроэнцефалографе.

РЕЗУЛЬТАТЫ

При пороговом раздражении кожи передней конралатеральной лапы у 2-дневного котенка от S_1 области соматосенсорной коры отводится однокомпонентный ВП отрицательного знака — H_1 (рис. 1 А).

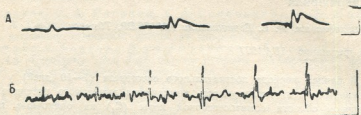


Рис. 1. Зависимость компонентов ВП соматосенсорной коры от силы кожного раздражения у 2-дневного (А) и 9-дневного (Б) котенка: раздражение передней конралатеральной лапы—0,1 мс, 10 и 15 В (А) и 0,1 мс, 3, 8, 10, 15, 20 и 30 В (Б). Калибровка—0,2 мВ, 20 мс (А) и 0,1 мВ, 1 с (Б). Здесь и на последующих осциллограммах отклонение кривой (луча) вверх — отрицательность под активным электродом

При увеличении интенсивности раздражения (удвоенное пороговое раздражение) происходит увеличение амплитуды H_1 и одновременно перед H_1 возникает позитивный потенциал малой амплитуды, а вслед за H_1 — второй отрицательный потенциал (H_2), который меньше по амплитуде, чем H_1 . При последующем увеличении силы раздражения (3 раза выше порогового раздражения) все компоненты резче и лучше дифференцируются. Динамика возникновения и развития этих компонентов, особенно P_1 и H_2 , наблюдается также у более взрослого животного (рис. 1Б). Однако к трем компонентам ВП прибавляется четвертый компонент — второй позитивный потенциал (P_2).

Итак, вышеописанные данные показывают, что P_1 , H_1 и H_2 компоненты ВП соматосенсорной коры регистрируются с самого начала постнатального онтогенеза, а порог их возникновения различен. Различна также функциональная способность этих компонентов в отношении «отвечаемости» при повторных раздражениях (рис. 2). При учащении раздражения меньше всего лабилен H_2 потенциал, который даже при низкой частоте раздражения (1/с) после третьего удара исчезает (рис. 2 А), а при частоте 2/с на второй удар не регистрируется (рис. 2 Б). Однако иногда вскоре после начала раздражения H_2 на короткое время вновь восстанавливается (рис. 2 В). К частому ритму раздражения также чувствительны P_1 и P_2 потенциалы — при учащении раздражения происходит быстрое угнетение P_1 потенциала (рис. 2 А-В) и облегчение P_2 (рис. 2 Б,В).

Из всех компонентов ВП к повторным раздражениям более устойчив H_1 потенциал, амплитуда которого резко меняется при частоте раздражения 3/с и выше (рис. 2 и 3). При раздражении частотой 0,5/с и выше, когда регистрируется и H_2 компонент, часто имеет место не-

которое увеличение амплитуды этого потенциала (рис. 3 А,Б), а при его исчезновении наблюдается расщепление вершины H_1 компонента (рис. 3 В). Необходимо также отметить, что при «средних» частотах раз-

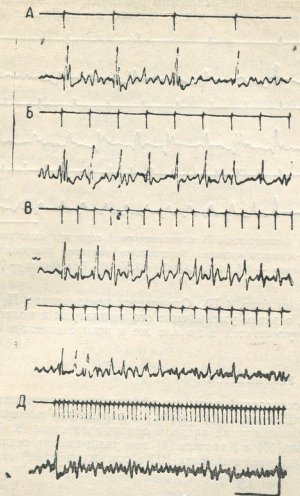


Рис. 2. Влияние частоты раздражения на компоненты ВП соматосенсорной коры у 4-дневного котенка. Раздражение передней контралатеральной лапы — 1 мс, 7В. Частота раздражения — 1/с (А), 2/с (Б), 3/с (В), 4/с (Г) и 10/с (Д). Калибровка — 0,1 мВ, 1 с

дражения для H_2 потенциала как будто устанавливается «собственный» ритм возбуждения, когда он возникает не на каждый импульс раздражения, а через один (рис. 3 Б). При этом увеличивается амплитуда длиннолатентного P_2 потенциала, который возникает вслед за H_2 потенциалом. При более высоком ритме раздражения он выражен слабее (рис. 3 В).

Функциональная дифференциация ВП явс проявляется также при парных раздражениях лапы (рис. 4). Например, если на первый стимул регистрируются три компонента вызванного потенциала — P_1 , H_1 и H_2 (рис. 4 А — верхняя кривая), через 450—500 мс в ответ на второй стимул полностью угнетается P_1 компонент и слегка облегчаются H_1 и H_2 (рис. 4 А — средняя кривая), а при интервале 400 мс между первым и вторым импульсами значительно уменьшается амплитуда H_1 компонента, а H_2 — полностью исчезает (рис. 4 А — нижняя

кривая). При этом удлиняется латентный период возникновения H_1 (если моментом возникновения H_1 считать начало восходящего колебания H_1). Динамика функционального различия компонентов ВП хорошо выражена при парных раздражениях в интервалах 750—250 мс

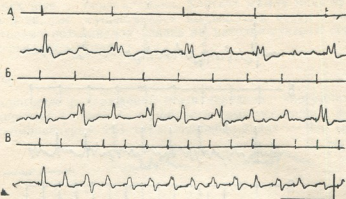


Рис. 3. Изменения компонентов ВП соматосенсорной коры при одиночных ритмических раздражениях у 4-дневного котенка. Раздражение передней контралатеральной лапы. Частота раздражения — 0,8/с (А), 1,5/с (Б) и 2,5/с (В). Калибровка — 0,1 мВ, 1 с

между стимулами (рис. 4 Б). Отмечается исчезновение Π_1 компонента, облегчение H_1 , а затем уменьшение его амплитуды и полное угнетение. Потенциал H_2 угнетается в начале же и вскоре исчезает (раньше чем H_1).

ОБСУЖДЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ

ВП соматосенсорной коры на афферентные раздражения (раздражение кожи или седалищного нерва) в первые дни постнатальной жизни котят по данным ряда авторов однокомпонентны [8, 9, 5]. Так, по данным Муровой [9] и Карамян [8] при раздражении седалищного нерва у котят положительная фаза ВП в соматосенсорной коре возникает

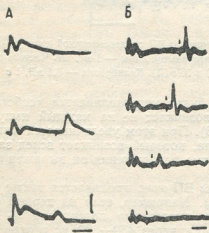


Рис. 4. Изменения компонентов ВП соматосенсорной коры при парных раздражениях у 2-дневного (А) и 4-дневного (Б) котят. Раздражение кожи передней контралатеральной лапы — 0,2 мс, 15 В (А) и 1 мс, 5 В (Б). А — верхняя осциллограмма — ВП на одиночное раздражение, средняя и нижняя — ВП на парные стимулы. Калибровка — 0,2 мВ 400 мс (А) и 0,1 мВ, 200 мс (Б)

только на 5—7 день постнатальной жизни, а по данным Баклаваджян и Адамян [5] на 3—5 день. По данным же других авторов [14, 7] при раздражении кожи передней лапы перед негативным потенциалом

(H_1) иногда с самых первых дней регистрируется положительный потенциал малой амплитуды.

Мнения о времени возникновения отрицательных коротколатентных и длиннolatентных, ранних и поздних негативных потенциалов (H_1 и H_2) соматосенсорной коры у котят также не совпадают. Так, у новорожденных котят Шеррер и Экономос [15] наблюдали оба отрицательных компонента, тогда как в другой работе [13] отмечается, что долготалентный ответ (H_2) обнаруживается только при раздражении светом, но не в соматосенсорной коре (при соответствующем афферентном раздражении). H_2 потенциал в соматосенсорной коре кролика возникает на 3—4 день жизни [3].

Экспериментальные данные, полученные нами на новорожденных котят, показали, что все основные компоненты ВП первичной области соматосенсорной коры (P_1 , H_1 и H_2) регистрируются в первые же дни после рождения животного, а функциональная дифференциация по порогам возникновения и устойчивости к повторным раздражениям компонентов ВП указывает на их различное происхождение.

ЛИТЕРАТУРА

1. Ата-Мурадова Ф. А. Физиол. журн. СССР, **49**, 781—789, 1963.
2. Ата-Мурадова Ф. А. Электрофизиология центральной нервной системы, Мат. V Всесоюз. конф., «Мецниереба», Тбилиси, 1966, 20—21.
3. Ата-Мурадова Ф. А. Эволюционная нейрофизиология и нейрхимия, «Наука», М.-Л., 1967, 89—98.
4. Ата-Мурадова Ф. А., Чернышевская И. А. III научное совещание по эволюции физиологии, посвященное памяти Л. А. Орбели. Л., 1961, 13—16.
5. Баклаваджян О. Г., Адамян Ф. А. Физиол. журн. СССР, **49**, 269—276, 1963.
6. Дзидзишвили Н. Н., Джавришвили Т. Д. III Всесоюз. конф. по вопросам электрофизиологии нервной системы, Киев, 1960, 150—151.
7. Дзидзишвили Н. Н., Джавришвили Т. Д. Физиол. журн. СССР, **47**, 559—565, 1961.
8. Карамян А. И. Журн. эволюц. биохим. физиол., **2**, 233—243, 1966.
9. Мурова Л. С. Журн. эволюц. биохим. физиол., **1**, 364—373, 1965.
10. Ellingson R. J., Wilcott R. C. J. Neurophysiol., **23**, 363—375, 1960.
11. Marty R., Cherveau J. C. R. Soc. Biol., **155**, 705—707, 1961.
12. Marty R., Contamin F., Scherrer J. C. R. Biol., **153**, 198—201, 1959.
13. Marty R., Scherrer J. Progress in brain research. Elsevier, Amsterdam, 1964, **4**, 222—236.
14. Oeconomos D., Scherrer J. C. R. Soc. Biol., **147**, 1229—1232, 1953.
15. Scherrer J., Oeconomos D. Etude neo-natales, **3**, 199—216, 1954.

სომატოსენსორული ქერქის გამოწვეული კოტახნიკალის კომპონენტების შესახებ პოსტნატალურ ონტოგენეზში

თ. ჯავრიშვილი

საქართველოს სსრ მეცნიერებათა აკადემიის ი. ბერიტაშვილის სახელობის ფიზიოლოგიის ინსტიტუტი, თბილისი

რეზიუმე

დანარკოზებულ კნუტებში, პოსტნატალური ონტოგენეზის ადრეულ პერიოდში (1—10 დღე), შეისწავლებოდა სომატოსენსორული ქერქის პირ-

ველადი უბნის გამოწვეული პოტენციალის კომპონენტები; ეს პოტენციალები აღმოცენდებოდა კანის ერთხელობრივი, წყვილეული და ტეტანური ტრული გაღიზიანების პასუხად.

გამოიკვია, რომ მაქსიმალური ინტენსივობის გაღიზიანების დროს (როდესაც გაღიზიანების ინტენსივობა 2—3-ჯერ აღემატება პირველი უარყოფითი ნიშნის მქონე კომპონენტის აღმოცენების ზღურბლს) ახალშობილი კნუტის სომატოსენსორული ქერქის პირველად უბანში აღმოცენდება გამოწვეული პოტენციალის სამი ძირითადი კომპონენტი — პირველი დადებითი (დ₁), პირველი უარყოფითი (უ₁), და მეორე უარყოფითი (უ₂) პოტენციალები.

ეს კომპონენტები ერთმანეთისაგან ფუნქციურად განსხვავდებიან. ეს ჩანს იმ ფაქტიდან, რომ მათი აღმოცენების ზღურბლი, დაკნინება-გაადვილების ციკლი და აფერენტული იმპულსაციის სიხშირის მიმართ მგრძობელობა სხვადასხვაა.

ON EVOKED POTENTIAL COMPONENTS OF SOMATOSENSORY CORTEX IN POSTNATAL ONTOGENESIS

T. D. JAVRISHVILI

I. S. Beritashvili Institute of Physiology, Georgian Academy of Sciences, Tbilisi, USSR

S u m m a r y

The components of evoked potential of the primary somatosensory cortex to the single, paired and tetanic skin stimulation were studied in early postnatal ontogenesis (1—10 days) in the anaesthetized kittens.

It was established that in response to the maximal stimulation (2—3 times exceeding the threshold of the first negative component) there appear the three main EP components — first positive (P_1), first negative (N_1) and second negative (N_2) potentials.

The functional properties of these components are different that is indicated by the thresholds, the depression-enhancement cycles and sensitivity to the frequency of afferent impulsion.

УДК 612.821.7

ФИЗИОЛОГИЯ ЧЕЛОВЕКА И ЖИВОТНЫХ

ВЛИЯНИЕ ИОНИЗИРУЮЩЕГО ИЗЛУЧЕНИЯ НА ДИНАМИКУ ЭЛЕКТРИЧЕСКОЙ АКТИВНОСТИ НЕКОТОРЫХ СТРУКТУР ГОЛОВНОГО МОЗГА В ЦИКЛЕ БОДРСТВОВАНИЕ—СОН

Н. Р. Кикнадзе

Институт физиологии им. И. С. Бериташвили АН ГССР, Тбилиси

Поступила в редакцию 31.6.1977

В хронических опытах изучалось влияние ионизирующего излучения (тотальная доза 400 и 800 Р) на динамику электрической активности сенсомоторной области новой коры, хвостатого ядра и дорсального гиппокампа в цикле бодрствование—сон. При воздействии дозой 800 Р в сенсомоторной коре и гиппокампе наблюдается увеличение (или тенденция к увеличению) альфа-ритма. Кроме того, в медленном сне уменьшается дельта-ритм, а в парадоксальном сне гиппокампальный тета-ритм, что ведет к редуцированию стадии глубокого медленного сна и эмоциональной стадии парадоксальной фазы. К концу наблюдения в некоторых случаях в парадоксальном сне возникали эпилептиформные разряды сперва в хвостатом ядре, а позднее и в остальных структурах. Облучение дозой 800 Р во всех случаях вызывало смерть животного. При облучении дозой 400 Р вышеописанные сдвиги проявляются позже и менее выражены. Через 10—14 дней происходит почти полное восстановление фоновой картины. При этой дозе эпилептиформные разряды не наблюдаются.

Еще в прошлом столетии Тарханов [18] показал, что нервная система чувствительна к ионизирующему излучению. Рядом авторов при воздействии разными дозами облучения отмечены поведенческие [21, 24, 25] и электрографические [10, 17, 26] сдвиги. Некоторые исследователи после облучения регистрировали эпилептиформную активность мозга [17, 19, 23, 34] или же частое спонтанное возникновение ритмических разрядов в диапазоне альфа-ритма [20, 22], считая эти изменения патологическими. В литературе почти нет сообщений, в которых систематически изучалось бы влияние облучения на динамику электрической активности мозга в цикле бодрствование—сон. Есть сведения, что динамика электрической активности мозга во время сна довольно чувствительна не только к раздражению и повреждению разных структур мозга [4, 12, 14], но и к воздействию такого внешнего фактора, как ионизирующее излучение [5]. Настоящая работа посвящена исследованию динамики электрической активности мозга в цикле бодрствование—сон после воздействия определенными дозами рентгеновских лучей.

МЕТОДИКА

Опыты проводились в хронических условиях на половозрелых кошках обоего пола. Монополярные и биполярные константановые электроды (диаметр изолированного кончика 150—200 мк) вживлялись

стереотаксически под нембуталовым наркозом (35—40 мг/кг) в различные области новой коры и хвостатого ядра, дорсальный гиппокамп, глазодвигательную мышцу. Координаты брались по атласу Джаспера и Аймонэ-Марсана [32].

Опыты начинались не раньше 5—7 дня после операции. В течение 3—4 дней до лучевого воздействия регистрировали фоновую электрическую активность по программе будущего эксперимента.

Регистрация производилась на 13-канальном чернилопишущем электроэнцефалографе фирмы «San'ei» с 2-канальным частотным анализатором и интегратором ЭЭГ. Интегрированные величины ритмов, составляющих электронеокоптограмму и электрогиппокамптограмму, обрабатывались количественно; статистическая достоверность наблюдаемых изменений проверялась по Т-критерию Стьюдента [9].

Далее животные облучались тотально (доза 400 и 800 Р) с помощью спаренной рентгеновской установки РУТ-II. Условия облучения: 200 кВ, 20 мА, фильтр 0,5 мм Си и 0,5 мм Аl, мощность дозы $50 \pm 2,5$ Р/мин. Наблюдение продолжалось до выздоровления животного или до летального исхода.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

В цикле бодрствование — сон нами условно были выделены три стадии: 1) бодрствующее состояние, в которое объединяются активное и пассивное бодрствование; 2) медленный сон — сюда входят дремотное состояние, поверхностный медленный сон и глубокий медленный сон; 3) парадоксальный сон.

Проведена количественная обработка данных частотного анализа для всех этих состояний до и после облучения. Динамика электрической активности мозга при активном бодрствовании после облучения не претерпевает значительных изменений.

На рис. 1 иллюстрируется динамика электрической активности новой коры и гиппокампа при пассивном бодрствовании, переходящем в дремотное состояние до (А) и через несколько дней (Б) после облучения дозой 800 Р. Как видно из рисунка, после облучения в сенсорной области новой коры в головке хвостатого ядра и дорсальном гиппокампе периодически возникают группы ритмических разрядов, которые чередуются с общей десинхронизацией электроэнцефалограммы. Из рис. 1 В видно, что при этом в новой коре и гиппокампе статистически достоверно возрастает альфа-ритм ($p < 0,01$).

Возникновение подобных ритмических разрядов после облучения наблюдается также во время медленного сна (рис. 2 А, Б), но в этом случае при количественной обработке выявляется лишь тенденция увеличения альфа-ритма — изменение статистически недостоверно (рис. 2 В). Кроме того, после облучения почти совершенно редуцируется фаза глубокого медленного сна, что выражается в отсутствии превалирования низкочастотного дельта-ритма на протяжении всего цикла. В результате соответственно увеличивается продолжительность медленного поверхностного сна.

Так как стадия глубокого медленного сна редуцируется, то парадоксальная фаза после облучения развивается вслед за поверхностным медленным сном. Началу парадоксальной фазы предшествуют одиночные или групповые разряды, которые тоже имеют частоту порядка альфа-ритма. Результаты статистической обработки спектрального анализа этой стадии показаны на рис. 3.

Самые существенные сдвиги под влиянием ионизирующего облучения в динамике электрической активности мозга происходят во время

парадоксальной фазы сна. Через несколько дней после облучения наблюдается угнетение гиппокампального тета-ритма (рис. 4). Кроме того, во всех отводимых структурах на фоне парадоксального сна периодически возникают группы ритмических разрядов, подобных тем, которые

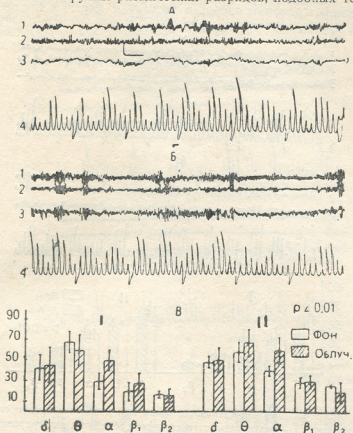


Рис. 1. Динамика электрической активности мозга при пассивном бодрствовании до (А) и после (Б) облучения. Отведения на А: 1 — сенсомоторная область новой коры, 2 — дорсальный гиппокамп, 3 — хвостатое ядро; на Б: 1 — сенсомоторная область новой коры, 2 — хвостатое ядро, 3 — дорсальный гиппокамп; в обоих случаях 4 — интегрированные величины δ -, θ -, α -, β_1 - и β_2 -ритмов сенсомоторной коры и дорсального гиппокампа; В — результаты статистической обработки интегрированных величин: I — сенсомоторная кора, II — дорсальный гиппокамп. Калибровка на всех рисунках 100 мкВ, 1 мс

регистрировались при пассивном бодрствовании и медленном сне (рис. 4 А, Б). Количественная обработка показывает, что при этом статистически достоверно возрастает альфа-ритм. Наряду с возрастанием альфа-ритма, в сенсомоторной коре наблюдается также увеличение быстроволновых компонентов — бета первого и бета второго ритмов (рис. 4 В), что согласуется с данными Кийоно и др. [33].

Итак, после облучения в электрической активности головного мозга во всем цикле бодрствование — сон наблюдается возникновение одиночных и групповых разрядов в диапазоне альфа-ритма; кроме того, отмечается также исчезновение гиперсинхронизации гиппокампального тета-ритма в парадоксальном сне и угнетение превалирования дельта-ритма в медленном сне, что влечет за собой редуцирование эмоцио-

нальной стадии парадоксального сна и стадии глубокого медленного сна.

На фоне всех вышеописанных сдвигов, при облучении дозой 800 P, в некоторых случаях в парадоксальном сне периодически возникали эпилептиформные разряды сперва в хвостом ядре, а позднее в сенсомоторной коре и гиппокампе (рис. 5).

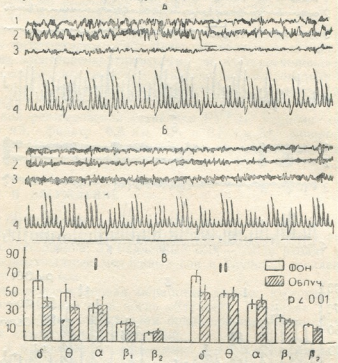
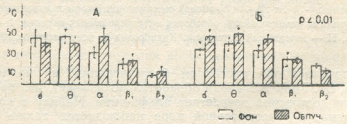


Рис. 2. Динамика электрической активности мозга при медленноволновом сне до (А) и после (Б) облучения; В — результаты статистической обработки интегрированных величин; отведения и обозначения те же, что на рис. 1

Как видно из описанных результатов, ионизирующее излучение существенным образом влияет на динамику отдельных ритмов головного мозга в цикле бодрствование — сон. Угнетение гиппокампа



Результаты статистической обработки интегрированных величин отдельных ритмов при переходе от глубокого медленного сна к парадоксальному: I — сенсомоторная кора, II — дерсальный гиппокамп

тета-ритма указывает на понижение эмоционального напряжения в парадоксальном сне. Это можно объяснить снижением функционального состояния эмоциональных, в частности гипоталамических структур, от-

ветственных за генерирование гиппокампального тета-ритма [5]. По
 снижение возбудимости эмоциогенных структур в свою очередь благо-
 приятствует развитию эпилептиформной активности в парадоксальном
 сне. Это подтверждается опытами Ониани и Орджоникидзе [15, 16], в
 которых раздражением эмоциогенных структур на фоне эпилептических
 судорог достигалось восстановление нормальной биоэлектрической ак-
 тивности.

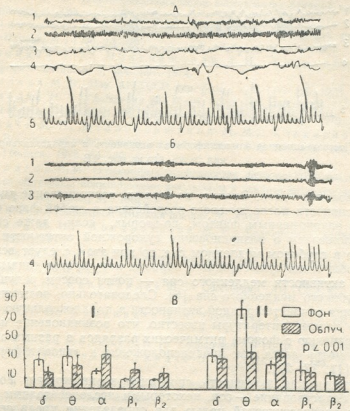


Рис. 4. Динамика электрической активности мозга при парадоксальном сне до (А) и по-
 сле (Б) облучения. Отведения на А: 1 — сенсомоторная область новой коры, 2 — дор-
 сальный гиппокамп, 3 — хвостатое ядро; на Б: 1 — сенсомоторная область новой коры,
 2 — хвостатое ядро, 3 — дорсальный гиппокамп; в обоих случаях 4 — глазодвигательная
 мышца, 5 — интегрированные величины отдельных ритмов сенсомоторной коры и гиппо-
 кампа; В — результаты статистической обработки интегрированных величин. Обозначе-
 ния те же, что на рис. 1

По литературным данным [26, 27, 28] эпилептиформные разряды
 после облучения возникают большей частью в архи- и палеокортикаль-
 ных структурах. В наших же опытах это явление наблюдалось пре-
 жде всего в хвостатом ядре, и, что самое важное, — в парадоксальной
 фазе сна.

Эти факты можно объяснить, если предположить, что для хвоста-
 того ядра характерна специфическая чувствительность к ионизирующе-
 му излучению. К тому же, известно, что хвостатое ядро может уча-
 ствовать в синхронизации некоторых колебаний [1, 11, 35], и тогда ре-
 зонно предположить участие хвостатого ядра в генерировании судорож-
 ной активности, так как синхронизирующая способность прежде всего

должна проявиться в этом аспекте. Несколько неожиданным является тот факт, что судороги впервые проявляются во время парадоксального сна, так как, по мнению некоторых авторов [3, 13, 30, 31], синхронизированный фон глубокого медленного сна был бы для этого более благоприятным. Но, с другой стороны, в литературе есть данные [7], которые утверждают, что пороги экспериментально вызванных судорог при электрическом раздражении гиппокампа не меняются по фазам цикла

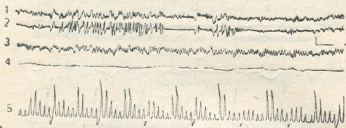


Рис. 5. Пострадиационная эпилептиформная активность в парадоксальном сне. Отведения те же, что на рис. 4 Б

бодрствование — сон. Значит, во-первых, возникновение эпилептиформной активности после лучевого воздействия в любой фазе сна является вполне закономерным фактом, во-вторых, если даже согласиться с предположением о возникновении судорожной активности преимущественно в глубоком медленном сне, то при этом следует вспомнить, что после облучения существенным образом нарушается динамика электрической активности медленного сна — почти совсем редуцируется стадия глубокого медленного сна [6]. Следовательно, возможно смещение появления эпилептиформной активности в парадоксальную фазу сна.

Из данных литературы известно, что возникновение или учащение (по сравнению с фоном) ритмических разрядов в разных областях мозга рассматривается как предрасположение к эпилептиформной активности [11, 17, 29].

Ритмическая активность, спонтанно возникающая во всех фазах цикла бодрствование — сон, некоторыми исследователями применяется даже с диагностической целью для определения предрасположенности головного мозга к судорогам [13]. Так что, с этой стороны, проявление судорог в парадоксальной фазе не может быть очень странным, ибо в пострадиационном периоде головной мозг все время подготавливается к процессу генерирования судорог.

И наконец, в данном случае мы имеем дело с определенными патологическими изменениями, которые появляются в головном мозге после облучения животного. Они должны менять функциональное состояние всего мозга и, в частности, самого хвостатого ядра, что выражается в виде синхронности появления компонентов пик-волна. Такого рода явления, как эпизоды заторможенности, состояние оцепенения, вспышки высокоамплитудных разрядов, пики и прочие формы пароксизмальной активности [2, 8, 17, 20], рассматриваются как показатели устойчивого смещения равновесия в корково-ретикулярном соотношении со снижением интенсивности восходящих влияний.

Вышеуказанные электрографические изменения проходят на фоне учащения чередования фаз в цикле бодрствование — сон [6]. Изменения этого порядка, по всей вероятности, имеют одну общую причину, которой может являться общая неспецифическая активация головного мозга после лучевого воздействия.

Результаты облучения дозой 400 R, отличаются тем, что вышеописанные сдвиги проявляются позже и через 10—14 дней происходит почти полное восстановление фоновой картины. При этой дозе развитие эпилептиформных разрядов не наблюдается.

ЛИТЕРАТУРА

1. Бутхузи С. М. Электрофизиологическое исследование функций хвостатого ядра, «Мецниереба», Тбилиси, 1971, 216—218.
 2. Иваницкий А. М. Нейрофизиологический анализ врожденных поражений мозга, «Наука», М., 1966, 18—29.
 3. Иоселиани Т. К., Нанобашвили З. И., Хизанишвили Н. А. Нейрофизиология, 6, 6, 584—591, 1974.
 4. Кешелава М. В. Изв. АН ГССР, сер. биол., 1, 2, 117—125, 1975.
 5. Кикнадзе Н. Р. Сообщения АН ГССР, 77, 2, 445—448, 1975.
 6. Кикнадзе Н. Р. Изв. АН ГССР, сер. биол., 2, 4, 290—296, 1976.
 7. Коридзе М. Г., Мгалоблишвили М. М., Кавкасидзе М. Г. В кн.: Вопросы нейрофизиологии эмоций и цикла бодрствование—сон, «Мецниереба», Тбилиси, 1976, 63—80.
 8. Кругликов Р. И. О некоторых особенностях функции ЦНС кроликов, подвергшихся облучению ионизирующим излучением в периоде антенатального развития, Автореф. канд. дисс., М., 1961.
 9. Лакин Г. Ф. Биометрия, «Высшая школа», М., 1973.
 10. Ливанов М. Н., Кондратьева И. Н. Медицинская радиология, 9, 3, 153—158, 1959.
 11. Мыслободский М. С. Гиперсинхронные ритмы в коре больших полушарий, «Наука», М., 1973, 52.
 12. Ониани Т. Н., Кавкасидзе М. Г. Сообщения АН ГССР, 67, 3, 685—688, 1972.
 13. Ониани Т. Н., Капанадзе Т. К. Сообщения АН ГССР, 51, 2, 477—482, 1968.
 14. Ониани Т. Н., Мольнар П. П. Сообщения АН ГССР, 59, 2, 445—448, 1970.
 15. Ониани Т. Н., Орджоникидзе Ц. А. ДАН СССР, 183, 5, 1221—1224, 1968.
 16. Ониани Т. Н., Орджоникидзе Ц. А. В кн.: Механизмы нервной деятельности, «Наука», Л., 1969, 90—98.
 17. Пионтковский И. А. В кн.: Функция и структура мозга животного, облученного ионизирующей радиацией в антенатальном периоде, «Наука», М., 1964.
 18. Тарханов И. Р. Больничная газета Боткина, № 33, 753, № 34, 785, 1896.
 19. Andrews H. L., Brace K. C. Amer. J. Physiol., 175, 1, 138—140, 1963.
 20. Berry M., Clendinnen B. G. and Eayrs J. T. EEG and clin. Neurophysiol., 15, 1, 91—104, 1963.
 21. Cooper G. P. and Kimeldorf D. J. Science, 143, 1040, 1964.
 22. Eayrs J. T. In: Regional Neurochemistry. Intern. Symp. Varenna, 423—436, 1961.
 23. Eldred E., Trowbridge W. Radiology, 62, 1, 65—73, 1954.
 24. Garcia G. P., Buchwald N. A., Bach-Y-Rita G., Feder B. H., Koelling R. A. Science, 140, 3564, 289—290, 1963.
 25. Garcia G. P., Buchwald N. A., Feder B. H., Koelling R. A. Nature, 196, 4858, 1014—1015, 1962.
 26. Gangloff H. In: Response of the Nervous System to Ionizing Radiation. 2nd Intern. Symp., Boston, 1964, 574—580.
 27. Gangloff H. and Haley T. J. Experientia, 15, 397—399, 1959.
 28. Gangloff H. and Haley T. J. Rad. Res., 12, 6, 694—704, 1960.
 29. Gibbs F. A., Davis H., Lennox W. G. Arch. Neurol. Psychiat., 34, 1133—1148, 1935.
2. Серия биологическая, т. 4, № 4



30. Gibbs E. L., Fuster B., Gibbs F. A. Arch. Neurol. Psychiat., 60, 95-97, 1954.

31. Guerrero-Figueroa R., Lester B., Health R. G. Acta Neurol. Latinoamer., 11, 330-349, 1965.

32. Jasper H. H. and Ajmone-Marsan C. A Stereotaxic Atlas of the Diencephalon of the Cat. Ottawa, Nat. Res. Council of Canada, 1954.

33. Kiyono S., Seo M., Takasu K., Shoji R., Takeuchi I., Murakami U. J. Physiol. Soc. Jap., 37, 4-6, 1975.

34. Ross J. A., Leavitt S. R., Holst E. A., Clemente C. D. Arch. Neurol. Psychiat., 71, 2, 238-249, 1954.

35. Vo-Ngoc B., Pcussart D. and Langlois J. M. Behav. Res. Meth. Instr., 5, 6, 1973.

მაიონიზირებადი გამოსხივების გავლენა თავის ტვინის ზოგიერთი სტრუქტურის ელექტრული აქტივობის დინამიკაზე ძილ-ღვიძილის ციკლში

ნ. კიკნაძე

საქართველოს სსრ მეცნიერებათა აკადემიის ი. ბერიტაშვილის სახელობის ფიზიოლოგიის ინსტიტუტი, თბილისი

რ ე ზ ი უ მ ე

ქრონიკულ ცდებში შეისწავლებოდა მაიონიზირებელი გამოსხივების (ტოტალური დოზა 400 და 800 რ) გავლენა ახალი ქერქის სენსომოტორული უბნის, კუდიანი ბირთვისა და დორსალური ჰიპოკამპის ელექტრულ აქტივობაზე ძილ-ღვიძილის ციკლში. 800 რ-ით დასხივებისას სენსომოტორულ ქერქსა და ჰიპოკამპში იზრდება ალფა რიტმი, ნელ ძილში მცირდება დელტა რიტმი, ხოლო პარადოქსულში ჰიპოკამპის თეტა რიტმი, რაც იწვევს ღრმა ნელი ძილისა და პარადოქსული ძილის ემოციური სტადიების რედუცირებას. ძილ-ღვიძილის ყველა სტადიაში და ყველა შესწავლილ სტრუქტურაში აღმოცენდებოდა რიტმული განმუხტვები ალფა რიტმის რანგში. ზოგიერთ შემთხვევაში დაკვირვების ბოლო დღეებში პარადოქსულ ფაზაში აღრიცხული იყო ეპილეპტიფორმული განმუხტვები ჯერ კუდიან ბირთვში, მოგვიანებით კი დანარჩენ სტრუქტურებშიც. 800 რ ყველა შემთხვევაში ცხოველის სიკვდილს იწვევდა.

400 რ-ით დასხივებისას ზემოთ აღწერილი ძვრები უფრო გვიან მკლავდებოდა და ნაკლებად იყო გამოხატული. 10-14 დღის შემდეგ ადგილი ჰქონდა ფონური სურათის თითქმის საბოლოო აღდგენას. ეს დოზა ეპილეპტიფორმულ განმუხტვებს არ იწვევდა.

INFLUENCE OF IONIZING RADIATION ON THE DYNAMICS OF ELECTRICAL ACTIVITY OF SOME BRAIN STRUCTURES IN THE WAKEFULNESS-SLEEP CYCLE

N. R. KIKNADZE

I. S. Beritashvili Institute of Physiology, Georgian Academy of Sciences, Tbilisi, USSR

S u m m a r y

In chronic experiments the influence of ionizing radiation (total dose 400 and 800 r) on the dynamics of electrical activity of sensorimotor cortex, caudate nucleus and dorsal hippocampus was studied in the wakefulness-sleep cycle. When influenced by 800 r the increase of alpha rhythm (or ten-



gency to increase) is observed in the sensorimotor cortex and hippocampus. Besides, during slow-wave sleep delta rhythm is decreased and in paradoxical sleep the hippocampal theta rhythm is decreased leading to the reduction of deep slow-wave sleep and emotional stage of paradoxical sleep. In all stages and in all structures studied the rhythmic discharges of alpha rhythms were observed. At the end of the experiment in some cases the epileptiform discharges arose in paradoxical sleep first in the caudate nucleus and later in other structures. The radiation by 800 r causes the death of animal in all cases.

When influenced by 400 r the above-mentioned shifts manifest themselves later and are less expressed. After 10—14 days almost a full recovery of the background pattern is observed. The epileptiform discharges are not observed under this dose.

15901

ქ. შარქისის სახ. საქ. სსრ
სახელმწიფო რესპუბლიკა
ბიბლიოთეკა

УДК 616=006=092-097

ПАТОЛОГИЧЕСКАЯ ФИЗИОЛОГИЯ

ВИДОВАЯ ЧУВСТВИТЕЛЬНОСТЬ К РЕАЛИЗАЦИИ БЛАСТОМОГЕННОГО ЭФФЕКТА МЕТИЛНИТРОЗОМОЧЕВИНЫ ПРИ ИЗМЕНЕНИИ РЕАКТИВНОСТИ ОРГАНИЗМА, ВЫЗВАННОМ ОРГАНСПЕЦИФИЧЕСКОЙ ИММУНИЗАЦИЕЙ ЖИВОТНЫХ

Д. Ш. Бениашвили

Онкологический научный центр, Тбилиси

Поступила в редакцию 7.4.1977

Изучено влияние органоспецифической иммунизации с применением в качестве адьюванта полного стимулятора Фрейнда на устойчивость организма к действию нейротропного канцерогена — метилнитрозомочевины у крыс, хомяков и кроликов. На основании результатов экспериментов становится ясным, что иммунизация разных видов животных антигеном из седалищного нерва изменяет реактивность организма к бластомогенному агенту и закономерно стимулирует индукцию опухолей периферических нервов.

Применение органоспецифической иммунизации и полного адьюванта Фрейнда, как известно [1, 2, 3, 5, 8], может стимулировать процессы канцерогенеза; это явление связано с изменением иммунологического статуса организма — увеличением выработки антител на вводимые антигены и развитием аутоиммунных и аутоаллергических процессов, что способствует изменению реактивности организма и снижению резистентности к возникновению опухолей.

В последнее время особое внимание привлекает изучение бластомогенеза, индуцированного разными производными нитрозаминов, которые, как известно, широко распространены во внешней среде (в том числе и биологических средах) и пищевых продуктах. Давно установлена различная восприимчивость к индукции опухолей животных разных видов; имеются видовые различия и в спектре новообразований, индуцированных нитрозосоединениями [9, 10, 11, 12]. В последующие годы появился ряд работ, посвященных изучению влияния изменений реактивности организма на индукцию опухолей ЦНС [4]; в то же время роль данного фактора в бластомогенезе периферической нервной системы по существу не изучена. Настоящая работа была предпринята с целью изучения влияния органоспецифической иммунизации на устойчивость организма к действию нейротропного канцерогена — метилнитрозомочевины у разных видов животных.

МАТЕРИАЛ И МЕТОД

Исследование проводилось на 450 животных, которые были разделены на 6 групп. Подопытных животных I (100 крыс), III (100 хомяков) и V групп (30 кроликов) иммунизировали антигеном из гомологичной ткани седалищного нерва. В качестве адьюванта использовали



полный стимулятор Фрейнда. После этого им, а также контрольным животным II (100 крыс), IV (100 хомяков) и VI групп (20 кроликов) еженедельно внутривенно (хомякам внутрибрюшинно) вводили метилнитрозомочевину в дозе 10 мг/кг. Антисыворотки готовили из седалищного нерва гомологичных животных по общепринятой методике и вводили 4 раза с интервалами 2 недели по 0,3—0,7 мл подкожно в межлопаточную область. Животные содержались в обычных условиях и находились под наблюдением до их естественной гибели. Всех погибших и забитых животных вскрывали. Кусочки опухолей фиксировали в нейтральном формалине. Целлоидиновые срезы окрашивали гематоксилином и пикрофуксином по ван Гизону. Данные обрабатывали статистически.

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

Наблюдение над подопытными и контрольными животными велось параллельно. Обобщение полученных материалов свидетельствует о том, что органоспецифическая иммунизация оказывает влияние на индукцию опухолей периферической нервной системы крыс, хомяков и кроликов. Как видно из табл. 1, в I, III и V группах наблюдалось увеличение выхода опухолей у подопытных животных (у 41 из 83 оставшихся в живых крыс к моменту появления первой нейрогенной опу-

Таблица 1
Частота развития и средний латентный период появления опухолей периферической нервной системы

Группа	Количество животных		Количество опухолей периферической нервной системы	Средний латентный период появления нейрогенных опухолей в днях
	в начале опыта	в момент появления первой нейрогенной опухоли		
I	100	83	41	166,4±34,1
II	100	79	23	323,4±39,8
III	100	62	27	199,1±35,5
IV	100	75	19	389,7±24,3
V	30	21	9	485,3±25,4
VI	20	16	3	720,4±22,5
Всего	450	336	122	

холи, у 27 из 62 хомяков и у 9 из 21 кролика) по сравнению с контрольными (у 23 из 79 крыс, у 19 из 75 хомяков и у 3 из 16 кроликов). Различия в количестве животных с опухолями в I, III и V группах по сравнению с контрольными крысами, хомяками и кроликами статистически достоверны— $0,05 > p < 0,01$. Статистический анализ материала с целью выявления изменений реактивности организма на частоту возникновения нейрогенных опухолей в опытной группе по сравнению с контролем проводился методом анализа эмпирических распределений путем вычисления наиболее адекватного для подобных случаев критерия соответствия χ^2 ; параллельно определяли меру связи по коэффициенту корреляции с оценкой его достоверности [6, 7]. В сравниваемых группах эксперимента устанавливается статистически достоверное (χ^2 для I и II групп равняется 8,1; для III и IV—6,3; для V—VI групп—4,5, $p < 0,05$) влияние органоспецифической иммунизации на частоту индуцированных метилнитрозомочевинной нейрогенных новообразований; при этом между частотой возникновения опухолей и иммунизацией

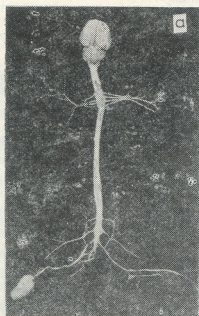
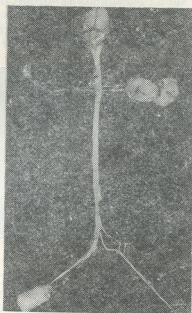


Рис. 1. а — Макроскопическая картина левого седалищного нерва хомяка; б — два опухолевых узла левого седалищного нерва кролика на разрезе

При микроскопическом исследовании в фасцикулярных нейринах часто встречались характерные структуры так называемых «те-

Рис. 2. Две опухоли крысы в области правого шейного и левого седалищного нерва



лец Верокая». В этих опухолях наблюдались пучки вытянутой формы клеток с палочковидными ядрами, образующими концентрические вихрения; нередко встречались палисадообразные структуры, состоящие из безъядерных волокнистых веществ, расположенных среди ядер, сгруппированных почти параллельными рядами (рис. 3). В ре-

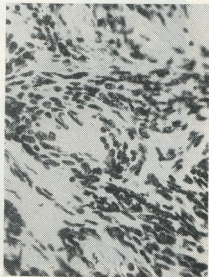


Рис. 3. Гистологическая структура нейриномы седалищного нерва крысы. Окраска гематоксилин-эозином. Об. 20; ок. 6,3

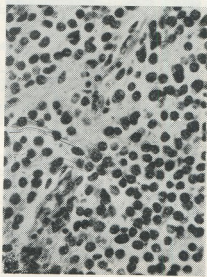


Рис. 4. Гистологическое строение симпатобластомы хомяка. Окраска гематоксилин-эозином. Об. 40; ок. 6,3

тикулярных нейриномах отсутствовало характерное для фасцикулярной нейриномы пучковое расположение волокон и клеток и ни разу не встречались палисадообразные структуры (рис. 4, 5). Симпатобластомы состояли из мелких круглой и овальной формы клеток с ядром,



Рис. 5. Микроскопическая картина ганглионевромы кролика. Окраска гематоксилин-эозином. Об. 6,3; ок. 6,3

занимающим почти всю клетку, и узким ободком протоплазмы. В межклеточной субстанции выявляется небольшое количество тонких волокон, окружающих комплексы клеток. Ганглионевромы состояли из крупных, полигональных, неправильно треугольной формы ганглиозных клеток с пенистой, вакуолизированной цитоплазмой и эксцентрич-

ნო расположенным ядром. В ганглиевом в отличие от симпатобла-
стомы межклеточной субстанции больше.

Таким образом, органоспецифическая иммунизация крыс, хомяков
и кроликов в наших опытах способствует стимуляции процессов бла-
стомогенеза в периферических нервах, вызванных применением мет-
илнитрозомочевины, что, вероятно, обусловлено изменением реактив-
ности организма под влиянием канцерогенного агента. Примененное
иммунологическое воздействие в этих условиях вызывает определен-
ные сдвиги аутоиммунных и аутоаллергических процессов у подопыт-
ных животных, вследствие чего снижается и резистентность организма
к индукции и росту опухолей периферической нервной системы.

ЛИТЕРАТУРА

1. Волегов А. И. Бюлл. exper. биологии и медицины, 69, 2, 79—81, 1970.
2. Волегов А. И. Бюлл. exper. биологии и медицины, 70, 2, 79—81, 1971.
3. Гордиенко С. П., Агеенко А. И. Бюлл. exper. биологии и медицины, 70, 10, 88—92, 1971.
4. Димант И. Н., Локтионов Г. М., Файн Н. Г., Сатаев М. М., Юсупова А. А. Медицинский журнал Узбекистана, 9, 19—22, 1976.
5. Димант И. Н., Израелия А. А., Локтионов Г. М., Сатаев М. М. Бюлл. exper. биологии и медицины, 67, 3, 98—100, 1968.
6. Кудрни А. Н., Пономарева Г. Т. Применение математики в эксперимен-
тальной и клинической медицине, «Наука», М., 1967.
7. Мисюк Н. С., Мастыкин А. С. Корреляционно-регрессивный анализ в кли-
нической медицине, «Наука», М., 1975.
8. Пылева З. А., Сахаров Ю. И. Вопросы онкологии, 21, 1, 94, 1975.
9. Denlinger B. H., Swenberg J. A., Koestner A., Wechsler W. J. Nat. Cancer Inst., 50, 1, 87—93, 1973.
10. Druckrey H., Preussman R., Jvankovic S., Schmähl D. Z. Krebsforsch, 69, 2, 103—201, 1967.
11. Jvankovic S. Krebsforsch. und Krebsbekämpfung, Bd 6, München-Berlin-Wien, 97—
100, 1967.
12. Mennel H. D., Bücheler J., Zülch K. J. Int. Congr. Neuropathol., Bu-
dapest, 1974, Proc. 1, Budapest, Akad. Kiado, 421—424, 1975.

სახეობრივი მგრძობალობა მეთილნიტროზოზარდოვანას
ბლასტომოგენური ეფექტის რეალიზაციისადმი, ცხოველთა
ორბანოსპეციფიკური იმუნიზაციით გამოწვეული ორბანიზმის
რეაქტიულობის ცვლილებისას

ჟ. ბანიავილი

ონკოლოგიის სამეცნიერო ცენტრი, თბილისი

რ ე ზ ი უ მ ე

შესწავლილია, თუ ორგანოსპეციფიკური იმუნიზაცია რა გავლენას ახ-
დენს ორგანიზმის მდგრადობაზე, როცა ვირთავის, ზახუნასა და შინაურა
კურდლის ორგანიზმზე მოქმედებს ნეიროტროპული კანცეროგენი-მეთილ-
ნიტროზოზარდოვანა. ცდების შედეგად გამოიჩვენა, რომ საჯდომი ნერვის ან-
ტიგენით გამოწვეული იმუნიზაცია სცვლის ორგანიზმის რეაქტიულობას
ბლასტომოგენური აგენტებისადმი და, როგორც წესი, აძლიერებს პერიფე-
რიული ნერვების სიმსივნეების განვითარებას.



THE SPECIES SENSIBILITY TO THE REALIZATION OF METHYLNITROSOURINE BLASTOGENIC EFFECT UNDER ORGANOSPECIFIC IMMUNISATION INDUCED CHANGES OF THE ORGANISM REACTION

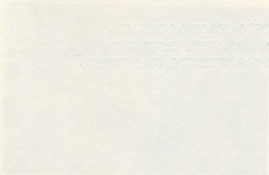
D. Sh. BENIASHVILI

Oncological Scientific Centre, Tbilisi, USSR

Summary

The influence of the organospecific immunisation of rats, hamsters and rabbits on the realization of methyl nitrosourine blastogenic effect has been studied. The experiments showed that tumours of the peripheral nervous system develop and manifest themselves earlier in the animals immunised with the antigen from the ischiatic nerve. The number of the induced neoplasm increases and the latent period shortens. The index of malignant degeneration noticeably rises.

1. M. M. ...
2. ...
3. ...
4. ...
5. ...
6. ...
7. ...
8. ...
9. ...
10. ...
11. ...
12. ...



УДК 616.831—036.8

ПАТОЛОГИЧЕСКАЯ МОРФОЛОГИЯ

КОЛИЧЕСТВЕННЫЕ МОРФОЛОГИЧЕСКИЕ ИЗМЕНЕНИЯ НЕРВНЫХ И НЕВРОГЛИАЛЬНЫХ КЛЕТОК ГАНГЛИОНАРНОГО СЛОЯ КОРЫ МОЗЖЕЧКА СОБАКИ ПОСЛЕ КЛИНИЧЕСКОЙ СМЕРТИ

А. В. Хучуа

НИИ экспериментальной и клинической хирургии МЗ ГССР, Тбилиси

Поступила в редакцию 5.5.1977

Показано, что в ганглионарном слое коры мозжечка собаки в восстановительном периоде после клинической смерти от кровопотери элементы системы неврон-гемоглия в начале реагируют противоположно в виде повышения РНК в грушевидных невронах и снижения ее в невроглиальных клетках. Затем отмечается однонаправленное изменение в виде общего снижения содержания РНК как в грушевидных невронах, так и сателлитарной глии. Эти изменения достигают максимума на вторые сутки. Восстановление количества РНК в нервных и глиальных клетках длится долго. Глиальный индекс грушевидных нейроцитов после начального возрастания (через $1/2$ и 3 ч) постепенно уменьшается (до 15 дней). Через 3 месяца он приближается к норме, а через 6 месяцев превосходит данные контрольных собак. Регенеративные процессы в коре мозжечка в связи с гибелью части грушевидных нейроцитов происходят исключительно в форме внутриклеточных.

Динамика морфологических изменений головного мозга в постреанимационном периоде изложена в ряде работ [5, 7, 9]. Однако в этих работах приведен лишь качественный анализ нервных и глиальных клеток различных участков центральной нервной системы. Исследования, отражающие количественные сдвиги структурных и цитохимических изменений этих клеток в восстановительном периоде после клинической смерти, в литературе отсутствуют. Между тем этот вопрос актуален, так как разрешение его позволит раскрыть некоторые механизмы как деструктивных, так и регенеративных процессов в нервных клетках головного мозга в постреанимационном периоде.

Целью данной работы явилось изучение в коре мозжечка в разные сроки после перенесенной клинической смерти количества грушевидных нейроцитов и окружающих их глиоцитов, а также исследование состояния метаболизма нуклеиновых кислот в органеллах этих клеток. Выбор грушевидных нейроцитов и их сателлитов объектом количественного исследования объясняется тем обстоятельством, что эти клетки, во-первых, высокочувствительны к кислородному голоданию и, во-вторых, расположены в один слой, что позволяет легко и безошибочно подсчитать их число под микроскопом.

МЕТОДИКА

Исследование выполнено на 40 собаках-самцах массой от 8 до 20 кг. Клиническую смерть вызывали свободным кровопусканием из

бедренной артерии после гепаринизации (3 мг/кг). Оживление животных после клинической смерти продолжительностью 5 мин проводили комплексной методикой (внутриартериальное нагнетание аутокрови, наружный массаж сердца и вентиляция легких) и осуществляли реаниматором собственной конструкции [13].

Животных забивали в различные сроки после оживления (через 1/2, 3, 24 ч, 2, 5, 10, 15 суток, 3, 6 месяцев) иссечением сердца после быстрой торакотомии, предварительно обездвиживая их лигатурой. Для каждого случая исследовали от 3 до 6 мозжечков. Материал фиксировали в жидкости Карнуа и заливали в парафин. В депарафинированных срезах РНК окрашивали галлоцианином по Эйнарсону, а ДНК — по Фельгену. Концентрацию (оптическую плотность) этих веществ определяли цитоспектрофотометрически в цитоплазме, ядре и ядрышке грушевидных невроцитов и в теле окружающих их глиоцитов при помощи зондового двухлучевого цитоспектрофотометра МУФ-5. Для определения содержания исследуемого химического ингредиента на одну клетку находили профильное поле (в $\mu\text{м}^2$) соответствующих органоидов клетки, на которое умножали установленные величины оптической плотности. Затем в процентах вычисляли разницу между показателями подопытных и контрольных животных.

Количество грушевидных невроцитов подсчитывали на сагитальных срезах коры мозжечка близ червя в 100 полях зрения (объектив 10, окуляр 5). При определении глиального индекса в качестве сателлитов учитывали лишь те клетки, которые непосредственно прилегали к нему и основанию отростков грушевидных невроцитов или же были удалены от них на расстоянии, не превышающем диаметра глиального ядра.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

Цитоспектрофотометрические исследования показали (рис. 1), что спустя 1/2 ч после оживления в грушевидных невроцитах мозжечка происходит некоторое увеличение содержания цитоплазматической и ядрышковой РНК, а в теле глиальных клеток-сателлитов происходит примерно такое же снижение содержания нуклеиновых кислот. Противоположно направленные изменения содержания РНК (повышение в невроцитах и понижение в глие), наблюдаемые нами в эти сроки постшемического периода, по-видимому, обусловлены возбуждением невроцитов [1, 3, 14]. Предполагают, что необходимое для процесса возбуждения повышение содержания РНК в теле невроцита может обеспечиваться сателлитарными клетками за счет непосредственного перехода части глиальной РНК в цитоплазму невроцита [2, 8, 12].

Через 3 ч после оживления цитоспектрофотометрическим исследованием в коре мозжечка уже выявляется общее снижение содержания нуклеиновых кислот как в грушевидных невроцитах, так и в сателлитарной глие. В течение суток эти изменения углубляются и достигают максимума на вторые сутки постреанимационного периода.

Следует отметить, что восстановление количества нуклеиновых кислот в глиальных и нервных клетках длится очень долго, даже на 3-м месяце восстановительного периода полной нормализации нет. Однако через 6 месяцев грушевидные невроциты мозжечка и окружающие их клетки невроглии уже содержат избыточное количество нуклеиновых кислот.

Реакция невроглии в ответ на клиническую смерть, наряду со сдвигом уровня содержания нуклеиновых кислот, проявляется также в изменениях числа периневрональных сателлитов (табл. 1). Возрастные изменения числа сателлитов на один грушевидный невроцит через 1/2 ч после



оживления от $3,30 \pm 0,06$ до $3,40 \pm 0,10$, очевидно, можно рассматривать как повышение функциональной активности нейроцитов [4, 16]. Однако, по нашим данным, такая структурная перестройка невроглии не всегда является показателем возбуждения нервных центров. Так например, через 3 ч после реанимации, когда налицо глубокие дистрофические изменения грушевидных нейроцитов, число периневрональных сателлитов даже еще больше увеличено и составляет $3,46 \pm 0,10$. По-видимому, лишь вкупе с повышенным количеством РНК в нервных клетках можно говорить о том, что возрастание сателлитов является признаком повышения функциональной активности нейроцитов.

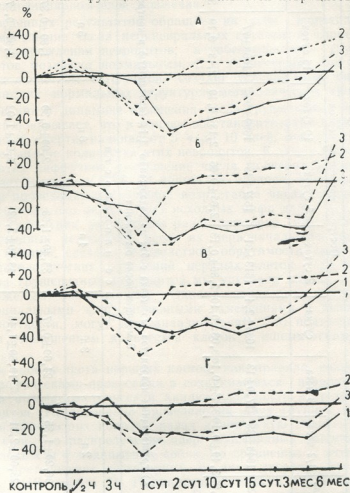


Рис. 1 Изменения площади (1), концентрации (2) и содержания РНК (3) цитоплазмы (А), ядра (Б) и ядрышка (В) грушевидных нейроцитов и тела его сателлитов (Г) в постреанимационном периоде. По оси ординат — отклонение от соответствующего контрольного уровня, принятого за 100%. По оси абсцисс — время после оживления

По данным литературы сравнительно легкая степень гипоксии со стороны глии вызывает пролиферативную реакцию [6, 11], а при тяжелых и длительных формах кислородной недостаточности эта реакция подавляется и замирает [3].

В наших наблюдениях, начиная с одних суток до 10—15 дней отмечается нарастание уменьшения числа клеток глии вокруг невроци-

Таблица 1

Изменения количества грушевидных нейроцитов и их глиального индекса в постреанимационном периоде

Гистологический количественный критерий	Контроль	Постреанимационный период									
		1/2 часа	3 часа	сутки	2 суток	5 суток	10 суток	15 суток	3 месяца	6 месяцев	
Число грушевидных нейроцитов в 100 полях зрения (ок. 5 об. 10)	1841 ± 36	1848 ± 35	1720 ± 13	1635 ± 2,4	1513 ± 31	1527 ± 48	1399 ± 95	1463 ± 77	1671 ± 58	1681 ± 33	
Глиальный индекс грушевидных нейроцитов	3,30 ± 0,06	3,40 ± 0,10	3,46 ± 0,10	3,63 ± 0,10	2,86 ± 0,13	2,65 ± 0,06	2,18 ± 0,10	2,18 ± 0,19	3,06 ± 0,15	3,33 ± 0,19	

Таблица 2

Распределение ядер (%) грушевидных нейроцитов мозжечка собак по содержанию ДНК (плотность) в контроле и через 6 месяцев после ожога

Вариант опыта	Класс плотности					Среднее содержание ДНК
	2 п	3 п	4 п	6 п	8 п	
Контроль	36,20 ± 1,35	24,60 ± 0,97	35,40 ± 1,53	2,00 ± 0,30	1,60 ± 0,37	3,14 ± 0,07
Через 6 месяцев после ожога	23,60 ± 2,81	19,60 ± 1,46	48,40 ± 2,02	5,60 ± 1,02	2,60 ± 0,37	3,51 ± 0,09



тов. Однако к 3-му месяцу восстановительного периода оно резко повышается и составляет $3,06 \pm 0,15$, а через 6 месяцев после оживления превышает даже цифры контрольных собак — $3,33 \pm 0,19$.

Таким образом, наш материал доказывает, что не всегда длительное отсутствие пролиферативной реакции со стороны невроглиальных элементов является признаком «прогрессирующей гибели органа» в живом организме, как об этом говорит Джакоб [15]. Такой регрессивный характер реакции глиальных клеток, несмотря на его продолжительность, может смениться возрастанием числа периневральных сателлитов в ганглионарном слое мозжечка.

Из приведенных результатов обращает на себя внимание тот факт, что уменьшение числа периневральных сателлитов коррелирует со степенью повреждения невроцитов, а обеспеченность грушевидных невроцитов мозжечка нормальным, т. е. характерным для интактных собак количеством сателлитов, создает условия для быстрого восстановления их нормальных структурно-метаболических свойств.

Исследования в динамике изменения числа грушевидных невроцитов мозжечка показывает, что в раннем восстановительном периоде после клинической смерти, начиная от 3 ч до 10 дней, отмечается нарастающее уменьшение количества этих невроцитов. К этому сроку в наших препаратах диффузное уменьшение числа грушевидных невроцитов составляет в среднем 25% от нормы. В позднем восстановительном периоде происходит постепенное возрастание числа грушевидных невроцитов, однако оно не достигает исходных цифр даже через 6 месяцев после оживления; уменьшение равно примерно 10%. Увеличение числа грушевидных невроцитов после их первоначального снижения, по нашему мнению, связано со свойством обратимости даже далеко зашедших патологических изменений нервных клеток. При подсчете общего числа грушевидных невроцитов мы упускали клетки с ишемическим и тяжелым заболеванием. Однако некоторые ишемические клетки, парциальными коагуляционными изменениями в цитоплазме, по всей вероятности, могут восстанавливаться. Это подтверждается постепенным уменьшением количества клеток с ишемическими изменениями.

Так как гибель части нервных клеток, как правило, сопровождается гипертрофическими процессами в сохранившихся невроцитах, мы предприняли цитофотометрический анализ плоидности ядер грушевидных невроцитов. Исследование проведено на двух группах собак — интактных и перенесших полгода назад клиническую смерть. Наблюдения показали, что распределение ядер грушевидных невроцитов по классам плоидности у подопытных собак, по сравнению с интактными животными, претерпевает достоверный сдвиг в сторону увеличения содержания ДНК (табл. 2). Полиплоидные клетки характеризуются высокой метаболической активностью. По своим свойствам тетраплоидная клетка может заменить две диплоидные, а октаплоидные — две три [1].

Полученные результаты убедительно показывают, что в ЦНС регенерационная гипертрофия в форме внутриклеточных гиперпластических процессов является основным, если не единственным, путем восстановления нарушенной функции ткани определенного участка головного мозга при снижении в нем числа нервных клеток. Такой путь для невроцита, по мнению Д. С. Саркисова [10], является наиболее выгодным и целесообразным, так как требует только увеличения количества структурных образований внутри существующих клеток, без затраты энергии на восстановление многочисленных связей для образования большого количества новых путей.

1. Бродский В. Я. Трофика клетки, «Наука» М., 1966.
2. Брумберг В. А., Певзнер Л. З. Цитология, 13, 129—147, 1971.
3. Вихерт Т. М. Арх. пат., 28, 63—68, 1966.
4. Гейнисман Ю. Я. Структурные и метаболические проявления функции нейрона, «Наука», М., 1974, 207.
5. Клоsovский Б. Н. Арх. биол. наук, 62, 101—111, 1941.
6. Курковский В. П. Арх. пат., 17, 10—22, 1955.
7. Негоvский В. А. Восстановление жизненных функций организма, находящегося в состоянии агонии или в периоде клинической смерти, «Медицина», М., 1943.
8. Певзнер Л. З. Функциональная нейрохимия нейроглии, «Наука», Л., 1972.
9. Романова Н. П. Патологоанатомические изменения в головном мозгу собак после терминальных состояний, вызванных острой кровопотерей и отравлением окисью углерода, Автореф. канд. дисс., М., 1959.
10. Саркисов Д. С. Арх. пат., 30, 3—12, 1968.
11. Снесарев П. Е. Общая гистопатология мозговой травмы, «Медицина», М., 1946.
12. Хидэи Х., Ланге П. В. В кн.: Биохимия и функция нервной системы, «Наука», Л., 1967, 21—34.
13. Эристави К. Д., Иоселиани Г. Д., Хучуа А. В. Авт. свид. № 369908, Булл. № 11, 1973, 13.
14. Ярыгин В. Н. В кн.: Реактивные и регенеративные процессы в нервной системе, «Сабхста Сакартвело», Тбилиси, 1971, 227—233.
15. Jacob H. In: Selective vulnerability of the brain in hypoxaemia. Ed. H. P. Schade, W. N. Mc Menemy, Oxford, 1963, 153—163.
16. Kulenkampff. Ztsch. Anat. Entwicklungsgesch., 116, 304, 1952.

კალის ნათხემის განვლიური ზრის ნერვული და
ნეიროგლიური უჯრედების რაოდენობრივი მორფოლოგიური
ცვლილებები კლინიკური სიკვდილის შემდეგ

ა. ხუვა

საქართველოს სსრ ჯანმრთელობის დაცვის სამინისტროს ექსპერიმენტული და კლინიკური
ქირურგიის ინსტიტუტი, თბილისი

რ ე ზ ი უ მ ე

ციტოფოტომეტრიული გამოკვლევით ცხოველის გაცოცხლების $1/2$ საათის შემდეგ, ნეირონსა და ნეიროგლიაში აღინიშნება რნმ-ს რაოდენობის ურთიერთსაწინააღმდეგო ცვლილებები: მსხლისებური ნეიროციტების ციტოპლაზმასა და ბირთვაკში რნმ იმატებს, ხოლო ნეიროგლიური უჯრედების სხეულში იკლებს. 3 საათის შემდეგ რნმ-ს რაოდენობა იკლებს, როგორც მსხლისებურ ნეიროციტებში, ასევე სატელიტურ გლიაში. დღელამის განმავლობაში ეს ცვლილებები ღრმავდება და მაქსიმუმს პოსტრეანიმიაციური პერიოდის 2 დღელამის შემდეგ აღწევს. რნმ-ს რაოდენობის აღდგენა ნათხემის ქერქის ნერვულ და გლიურ უჯრედებში დიდ ხანს გრძელდება. გაცოცხლებიდან 3 თვის შემდეგ სრული ნორმალიზაცია ჯერ კიდევ არ არის მომხდარი, ხოლო ექვსი თვის შემდეგ ნათხემის მსხლისებური ნეიროციტები და მათი სატელიტური უჯრედები ნორმაზე მეტი რაოდენობის რნმ-ს შეიცავენ. მსხლისებური ნეიროციტების რაოდენობა, თუ არ ჩავთვლით ამ უჯრედების ცვლილებების იმეორ და მძიმე ფორმებს, დაწყებული 3 საათიდან 10 დღემდე, პროგრესულად მცირდება. შემდეგ აღინიშნება მათი თანდათანო-

ბითი აღდგენა იშემიური უჭრედების შემცირების ხარჯზე, მაგრამ გაცოცხლებიდან 6 თვის შემდეგაც კი მათი რაოდენობა ვერ აღწევს საწყის მონაცემებს და დანაკარგი საკონტროლო ციფრების 10%-ს შეადგენს.

ნათხემის მსხლისებური ნეიროციტების გლიური ინდექსი გაცოცხლებიდან $1/2$ და 3 საათის შემდეგ სარწმუნოდ იზრდება. ერთი დღიდან დაწყებული 15 დღემდე აღინიშნება მისი თანდათანობით შემცირება. სამი თვის შემდეგ მსხლისებური ნეიროციტების გლიური ინდექსი ნორმას უახლოვდება, ხოლო 6 თვის შემდეგ საკონტროლო ძალლების მონაცემებს აჭარბებს.

QUANTITATIVE MORPHOLOGICAL CHANGES IN THE NERVE AND NEUROGLIAL CELLS OF GANGLIONIC LAYER OF THE DOG'S CEREBELLAR CORTEX AFTER CLINICAL DEATH

A. V. KHUCHUA

Institute of Experimental and Clinical Surgery, Georgian Ministry of Health, Tbilisi, USSR

S u m m a r y

In the neuron-neuroglia system 0.5 hr after resuscitation cytophotometric study revealed diverse changes in RNA content: its increase in the cytoplasm and nucleolus of the pyriform neurocytes and decrease in the body of neuroglial cells. In 3 hr there is a total decrease of RNA content in the pyriform neurocytes as well as in the satellite glia. These changes reached maximum on the second postoperative day. Restoration of RNA content in the nerve and glial cells of the cerebellar cortex lasted for a long time. A complete normalization did not occur even in 3 months. In 6 months the pyriform neurocytes of the cerebellar cortex and their glial cell satellites contained more RNA than in the norm. From 3 to 10 hr the number of pyriform neurocytes progressively decreased. Their number then gradually restored at the expense of ischemic cell decrease. 6 months after resuscitation the loss was 10—15% of the control values. In 0.5 and 3 hr after resuscitation there was a statistically significant increase in the glial index of pyriform neurocytes. From 1 to 15 days its gradual decrease was observed. 1—3 months on the glial index of pyriform neurocytes approached the normal value and in 6 months it exceeded the values of the control dogs.

УДК—612.822.1

БИОХИМИЯ

ИЗУЧЕНИЕ ВОЗМОЖНОСТИ ОБРАЗОВАНИЯ КАНЦЕРОГЕННЫХ N-НИТРОЗОСОЕДИНЕНИЙ У КРЫС ПРИ ПЕРОРАЛЬНОМ ВВЕДЕНИИ ПИПЕРАЗИНА И НИТРИТА

З. Г. Григорашвили, А. А. Гоголи, Н. М. Харадзе,
Г. З. Григорашвили, Л. С. Чежия, Н. Л. Захарова

НИИ санитарии и гигиены им. Г. М. Натадзе МЗ ГССР, Тбилиси

Поступила в редакцию 21.4.1977

В опытах на крысах изучена возможность образования канцерогенных N-нитрозосоединений при пероральном введении пиперазина и нитрита. Образование N-динитрозопиперазина устанавливали с помощью тонкослойной хроматографии и ИК-спектроскопии. Показана принципиальная возможность образования (путем нитрозирования) канцерогенного N-динитрозопиперазина при взаимодействии пиперазина и нитрита в желудке крыс в широком диапазоне pH среды.

Эксперимент позволяет проследить различные этапы становления злокачественного роста и открывает перспективу гигиенической профилактики рака.

В последние годы в зарубежной литературе стали появляться сообщения о возможности возникновения злокачественных опухолей у животных в результате перорального введения вторичных аминов и нитритов [7, 14, 15, 16].

Анализ наблюдений позволил заключить, что в отличие от ранее известных эндогенных канцерогенов, которые являются веществами из метаболического фонда организма (образование их в организме впервые предположил академик Л. М. Шабад в 1937 году), эндогенные соединения образуются в результате реакции нитрозирования. Эта реакция легко протекает в биологических средах, если обеспечивается контакт нитрозирующего агента (нитрита натрия) и соответствующих вторичных аминов [5, 10, 12, 14, 17].

Исследованиями [3, 4] в модельных опытах на крысах-самках было показано, что у отдельных вторичных аминов отсутствует способность нитрозировать в желудке — в связи с созданием сравнительно сильной щелочной реакции, противодействующей нитриту.

Однако проведенными исследованиями [3, 13, 16, 17] было подтверждено, что в определенных условиях происходит синтез нитрозамина в желудке животного в объеме, приводящем к образованию опухолей [3, 18, 19].

В связи с тем, что большие концентрации нитрозаминов в окружающей среде пока что не обнаруживаются, основное внимание обращено на возможность образования нитрозаминов в желудке при определенных условиях. Возможность такого образования установлена несколько лет назад и, несмотря на трудности исследования, эта проблема приобрела чрезвычайную важность [11].

Несмотря на то, что подобные наблюдения немногочисленны и еще нуждаются в дальнейшем глубоком и всестороннем изучении, они представляют большой интерес в этиологии и патогенезе злокачественных опухолей человека, приобретают важное значение для поиска пищевых факторов антиканцерогенеза и таким образом открывают определенную перспективу гигиенической профилактики рака.

Цель настоящей работы — изучение возможности образования эндогенных канцерогенных N-нитрозосоединений у крыс при пероральном введении пиперазина и нитрита.

МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ

В опытах были использованы белые беспородные крысы весом 110–130 г, которых ежедневно (исключая выходные дни) в течение 14 месяцев затравляли разной концентрации пиперазином и нитритом натрия, смешанными в мачной каше.

В I группе 18 крыс получали 46,0 мг/кг пиперазина и 0,5%-ный нитрит натрия. Во II группе 18 животных получали 4,6 мг/кг пиперазина и 0,5%-ный нитрит натрия. III группа (18 животных) получала 0,46 мг/кг пиперазина (ПДК) и 0,5 нитрита натрия; в IV группе (контроль) 9 крыс получали 46,0 мг/кг пиперазина и водопроводную воду, а 9 содержали на обычном рационе вивария.

Качественное обнаружение N-нитрозосоединений проводили с помощью тонкослойной хроматографии по Кроллеру [9]. Через 30 мин после введения указанных концентраций пиперазина и нитрита животных забивали, вскрывали, вырезали желудок с первой половиной тонкой кишки, пробу измельчали и гомогенизировали в микроизмельчителе тканей с 20 мл дихлорметана. После гомогенизации к смеси добавляли 100 мл дихлорметана и экстрагировали в течение 60 мин, экстракт фильтровали и промывали 20%-ным карбонатом калия. В делительной воронке дихлорметановый слой отделяли от смеси и сушили безводным сернистым натрием, после чего раствор выпаривали до 0,1 мл и наносили на хроматографическую пластинку с адсорбентом «силикагель G». В качестве растворителя применяли дихлорметан. После разделения содержимого пластинки вынимали и сушили до испарения растворителя. Пластинки опрыскивали 10%-ным HCl, сушили и облучали в хемископе ультрафиолетовыми лучами в течение 5 мин. После просматривания пластинку вновь опрыскивали 0,2%-ным этаноловым раствором нингидрина и на 60 мин помещали в сушильный шкаф при t 110°C (для идентификации N-динитрозопиперазина). Обнаруживаемые пятна на «силикагеле G» обводили, элюировали ацетоном и центрифугировали. Выделенное вещество подвергали спектроскопическому исследованию (ИК-спектры снимались на приборе «VR-10», а электронные на приборе «Specord UV-vis»).*

После изучения состава периферической крови у экспериментальных животных с интервалом в 1 месяц параллельно брались мазки для изучения фагоцитарной активности лейкоцитов, цитоморфологических и цитохимических исследований. Окраска мазков производилась по Крюкову-Папенгейму. Гликоген выявлялся по Шабадашу, пероксидаза по Грехем-Кнолю, щелочная фосфатаза по Гомори.

Подопытные и контрольные животные либо забитые, либо павшие подвергались патологоанатомическому вскрытию с последующим па-

* Спектральная характеристика элюированного препарата (ИК-спектроскопия) проведена на кафедре биоорганической химии Грузинского сельскохозяйственного института, за что приносим искреннюю благодарность профессору Д. Ш. Угрехелидзе.

гистологическим исследованием различных органов. Кусочки тканей из паренхиматозных органов, взятые для патогистологического исследования, фиксировались в 12%-ном растворе формалина и заливались в целлоидин, затем окрашивались гематоксилин-эозином и пирофуксином по ван Гизону.

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЙ

Проведенные исследования по обнаружению N-нитрозосоединений показали, что в образцах хроматограмм I, II, III опытных групп животных присутствуют пятна, дающие характерную качественную реакцию — желтая окраска после опрыскивания хроматограмм 10%-ным HCl). При сопоставлении значений R_f -веществ из содержимого желудка и свидетелей оказалось, что их значения в трех группах животных соответствуют динитрозопиперазину ($R_f=0,12$). На хроматограмме IV (контрольная) группы животных пятно соответствующее N-нитрозосоединениям хроматографически обнаружено не было.

Выделенное вещество имеет максимум поглощений при 370 нм.

В ИК-спектре данного вещества представлены характерные интенсивные максимумы метиленовой группы при 2880 см^{-1} и 2900 см^{-1} (валентные колебания), а также максимум средней интенсивности при 1460 см^{-1} (деформированные колебания) [1, 2].

Максимум средней интенсивности при 1165 см^{-1} характерен для валентных колебаний связи C—N [1, 2].

Согласно данным Клейна и Берковича [8] в N-окисях валентные колебания N—O представлены максимумом при 1318 см^{-1} , а в окиси пиримидина — при 1279 см^{-1} . Эти максимумы имеются и в ИК-спектре исследуемого вещества, что указывает на наличие в молекуле этого

вещества группы $\text{C} \begin{array}{l} \diagup \\ \diagdown \end{array} \text{N}-\text{N}=\text{O}$.

Спектральные характеристики исследуемого вещества подтверждают, что выделенный препарат, полученный с помощью тонкослойной хроматографии, соответствует структуре динитрозопиперазина. Значение $R_f=0,12$ на хроматограмме также соответствует динитрозопиперазину, на что указывают и другие авторы [7, 9, 20].

Полученные результаты подтверждают возможность образования канцерогенного динитропиперазина при взаимодействии пиперазина (вторичного амина) и нитрита натрия в желудке у экспериментальных животных в широком диапазоне pH среды, хотя оптимум реакции наблюдается при pH 3.

Таким образом, результаты настоящей работы свидетельствуют о реальной возможности образования в желудке из предшественников — вторичных аминов (пиперазин) и нитрита натрия — канцерогенного вещества N-динитрозопиперазина.

ЛИТЕРАТУРА

1. Беллами Л. Инфракрасные спектры сложных молекул, ИЛ, М., 1963.
2. Беллами Л. Новые данные по ИК-спектрам сложных молекул, ИЛ, М., 1971.
3. Лоогна Г. О. Сб. научных трудов Института экспер. и клинич. медицины Минздрава Эстонской ССР, Таллин, 1972, 16—21.
4. Druckrey H. Z. Krebsforsch., Landchutz Ch. Bd. 76, 45—58.
5. Galea V., Preda N., Popa L. Intern. Agenc. for Research on Cancer, WHO, Lyon, 121—125, 1975.



6. Garcia H., Keefer L., Lijinsky W., Wenyon C. Z. Krebsforsch, 74, 179, 1970.

7. Greenblatt M., Mervish S. J. Nat. Cancer Inst., 46, 1029-1034, 1971.

8. Klein I., Berkowitz N. J. Ann. Chem. Soc., 81, 516-521, 1959.

9. Krolller E. Dtsch. Lebensmitt, Rd 63, 303-306, 1967

10. Lijinsky W., Epstein S. J. Nature, 225, 21-26, 1970.

11. Lijinsky W. AMB10, 5, 2, 67-71, 1976.

12. Montocano R., Magee P. N. Int. J. Cancer, 7, 249-254, 1971.

13. Reuber M. J. Nat. Cancer Inst., 34, 6, 697-702, 1965.

14. Sander I. Arch. Hyg. Bact., 151, 22-27, 1967.

15. Sander I. Intern. Agenc. for Research of Cancer, WHO, Lyon, 159-166, 1975.

16. Sander I., Bürkle G. Z. Krebsforsch, 73, 54-59, 1969.

17. Sander I., Bürkle G. Z. Krebsforsch, 75, 301-306, 1971.

18. Sander I., Seif F. Arzneimittel-Forsch., 19, 1089-1094, 1969.

19. Sen N., Smith D., Schwinghamer L. Cosmet. Toxicol., 7, 301-306, 1969

20. Sen N., Donaldson B. Intern. Agenc. for. Research on Cancer. WHO. Lyon, 72-78, 1975.

კანცეროგენული N-ნიტროზოშენაერთების წარმოქმნის
შესაძლებლობის შესწავლა პერორალური, პიპერაზინისა და
ნატრიუმის ნიტრიტის პერორალურად მიღების შედეგად

ზ. გრიგორაშვილი, ა. ა. გოგოლი, ნ. მ. ხარაძე, გ. ზ. გრიგორაშვილი
ლ. სეფია, ნ. ჯახაროვა

საქართველოს სსრ ჯანმრთელობის დაცვის სამინისტროს გ. ნათაძის სახელობის
სანიტარიისა და ჰიგიენის ინსტიტუტი, თბილისი

რ ე ზ ი უ მ ე

ვირთაგვებზე, თხელფენოვანი ქრომატოგრაფიისა და ინფრაწითელი
სპექტროსკოპიის საშუალებით, შესწავლილ იქნა N-ნიტროზოშენაერთების
წარმოქმნის შესაძლებლობა პიპერაზინისა და ნატრიუმის ნიტრიტის პერორალურად მიღების შედეგად.

აღმოჩნდა, რომ ვირთაგვის კუჭში შესაძლოა წარმოიქმნას კანცეროგენული N-დინიტროზოპიპერაზინი (ნიტროზირების გზით), პიპერაზინისა და ნატრიუმის ნიტრიტის ურთიერთმოქმედების შედეგად, გარემოს pH-ის ფართო დიაპაზონში. ეს ექსპერიმენტი გვაძლევს ავთვისებიანი სიმსივნის ფორმირების სხვადასხვა ეტაპის შემდგომი შესწავლის შესაძლებლობას და სახავს სიმსივნეების ჰიგიენური პროფილაქტიკის პერსპექტივას.

STUDIES ON THE POSSIBILITY OF FORMATION OF CANCEROGENIC
N-NITROSO COMPOUNDS IN RATS WITH PERORAL ADMINISTRATION
OF PIPERAZINE AND SODIUM NITRITE

Z. G. GRIGORASHVILI, A. A. GOGOLI, N. M. KHARADZE, G. Z. GRIGORASHVILI,
L. S. CHEZHIA, N. L. ZAKHAROVA

G. M. Natadze Institute of Sanitation and Hygiene, Ministry of Health of the Georgian
SSR, Tbilisi, USSR

Summary

In the experiments with rats given perorally piperazine and sodium nitrite the possibility of formation of cancerogenic N-nitroso compounds

has been studied with the use of thin-layer chromatography and infra-red spectroscopy. Possibility of formation (as a result of nitrosation) of cancerogenic N-dinitrosopiperazine due to the interaction between piperazine and sodium nitrite in the stomach of rats at a wide range of the medium pH has been shown. The experiments allow to observe subsequently various stages of the malignant growth formation and open broad perspective for hygienic prophylaxis of cancer.

УДК 577.15.049

БИОХИМИЯ

ВЛИЯНИЕ ХОЛЕСТЕРОЛА НА НЕКОТОРЫЕ ФЕРМЕНТНЫЕ СИСТЕМЫ РАСТИТЕЛЬНОЙ КЛЕТКИ

С. В. Дурмишидзе, М. Ш. Гордзениани, Е. А. Бобохидзе

Институт биохимии растений АН ГССР, Тбилиси

Поступила в редакцию 23.6.1977

Исследовано влияние экзогенного холестерина на процесс восстановления неорганического азота и пентозофосфатный цикл в листьях виноградной лозы и юкки славной. Установлено значительное возрастание азотассимилирующей способности растительного материала при одновременном участии в реакционной среде холестерина и НАД(Ф)Н+Н⁺. Отмечено параллельное усиление глутаматдегидрогеназной активности и сдвиг реакции в сторону окислительного дезаминирования глутамата, что подтвердилось и масспектрометрическими измерениями с применением K¹⁵NO₃. Усиление нитратредуктазной активности не влияет на окислительный распад кольца-А холестерина.

Холестерол на 20% уменьшает каталитическую активность глюкозо-6-фосфатдегидрогеназы.

Сделан вывод, что в процессе ассимиляции азота и гидроксирования холестерина используется внутримитохондриальный, а не связанный с пентозным циклом НАДФН+Н⁺, и в этом случае не наблюдается конкуренция за использование данного кофермента.

Сходство строения молекулы холестерина со стероидными гормонами, являющимися сильными индукторами ферментов, определяет его способность активировать каталитическую функцию различных белков как в животном, так и в растительном организмах [13, 17, 18]. Привлекает внимание тот исключительно широкий диапазон метаболических путей, который подвергается регулирующему действию холестерина (или продуктам его превращения) [9].

Проведенные ранее в нашем институте исследования показали, что первичным актом деградации ароматических и полициклических соединений, а также холестерина, является гидроксирование [5, 6, 7]. Осуществление этой важной функции клеткой требует участия НАД(Ф)Н+Н⁺ [11]. Возможно, что сам процесс окислительного расщепления холестерина в растительной ткани, вызывая значительные качественные изменения и перераспределение фонда восстановительных никотинамидных коферментов, может оказать влияние на течение обменных реакций.

В данной работе изучено влияние холестерина на некоторые ферментные системы, которые для проявления своей каталитической активности требуют наличия восстановленных или окисленных форм никотинамидных нуклеотидов (дегидрогеназы, участвующие в биологическом восстановлении и фиксации неорганического азота, в оксидативной фазе окисления глюкозы через пентозофосфатный цикл и др.).

В опытах использовались тонко нарезанные (0,2 мм) листья виноградной лозы (*Vitis vinifera* L) сорта Ркацители и юкки славной (*Jukka gloriosa*). Активность нитратредуктазы определялась методом, описанным Мульдером, Боксма и Ван Вееном [19]. После предварительной 3-часовой инкубации листьев в соответствующих растворах калориметрически измерялось количество образовавшегося NO_2 , рассчитанного с помощью стандартной кривой и выраженного в мкМ/г NaNO_2 .

Глютаматдегидрогеназная активность определялась методом Яковлевой, Кретовича и Гильманова [15]. Интенсивность реакции учитывалась в зависимости от уменьшения количества НАДФокис в результате восстановительного аминирования α -кетоглутарата ионами аммония или от увеличения количества НАДФН+ H^+ при окислительном дезаминировании глютамата. Активность фермента измерялась спектрофотометрически, путем изменения оптической плотности реакционной среды при длине волны 340 нм.

Активность глюкозо-6-фосфатдегидрогеназы в ацетоновых ферментных препаратах определялась методом Глока и Мак Лина [16] путем изменения оптической плотности реакционной среды (образовавшегося НАДФН+ H^+ в мкг/мг белка в мин при окислении глюкозо-6-фосфата-К) при длине волны 340 нм. Для изучения изменения функционирования пентозного цикла под влиянием холестерина установлены также значения коэффициентов C_6/C_1 , где C_6 и C_1 — радиохимический выход из 6— ^{14}C и 1— ^{14}C глюкозы соответственно. Для этого был применен манометрический метод Варбурга и при этом радиоактивность выделенного $^{14}\text{CO}_2$ измерялась на счетчике типа БФЛ Т-25 (эффективность 20%) [4].

Продукты, образовавшиеся из 5- ^{14}C -глютамата, идентифицировались хроматографией на бумаге с помощью метчиков с последующим измерением радиоактивности образцов на жидкостно-сцинтилляционном счетчике SL-30 (эффективность 93%).

Для изучения влияния холестерина на процесс азотфиксации в опытах был применен меченый по азоту K^{15}NO_3 . Обогащение глютамата, аспартата и их амидов тяжелым азотом измерялось на масспектрометре типа МИ 1305 [1, 12].

Белковый азот определялся микрометодом Кьелдаля [10]. Изучение нитратредуктазной активности в листьях виноградной лозы и юкки славной показало, что усиленное функционирование фермента начинается с добавления в реакционную среду источника окисленной формы неорганического азота (табл. 1). Участие НАД(Ф)Н+ H^+ еще больше стимулирует энзиматическую активность данного фермента. При этом наблюдается почти одинаковое влияние НАДН+ H^+ и НАДФ+ H^+ . Вероятно, в листьях исследованных растений функционируют изоферменты нитратредуктазы, специфичные для обоих коферментов (восстановленный НАД(Ф):нитрат-оксидоредуктаза К.Ф. 1.6.6.2).

Азотассимилирующая способность листьев обоих растений становится наибольшей при внесении в реакционную среду холестерина и эффект его стимулирующего действия как с участием НАДН+ H^+ , так с НАДФН+ H^+ в этом случае почти одинаков.

Какова же роль экзогенного холестерина в дальнейшей судьбе акцептированного неорганического азота? Изучение глютаматдегидрогеназных активностей листьев показало, что в применяемой нами концентрации холестерол увеличивает восстановительное аминирование α -кетоглутарата в виноградной лозе на 200%, в листьях юкки на 153%, а окислительное дезаминирование глютамата соответственно увеличивается на 286 и 210% (табл. 2).

Из полученных результатов видно, что под влиянием холестерина реакция α -кетоглутарат \rightleftharpoons глутамат сильно сдвинута в сторону окислительного дезаминирования.

Таблица 1

Изменение нитратредуктазной активности листьев виноградной лозы и юкки славной под влиянием НАД(Ф)Н+Н+ и холестерина*

Вариант опыта	Активность нитратредуктазы мМ/г NaNO ₂	
	в листьях виноградной лозы	в листьях юкки славной
Фосфатный буфер (контроль) pH 6,0	0,14±0,01	0,20±0,01
" + KNO ₃	0,30±0,02	0,66±0,01
" + KNO ₃ +НАДН+Н+	0,58±0,03	1,02±0,01
" + KNO ₃ +НАДФН+Н+	0,54±0,03	0,92±0,01
" + KNO ₃ +НАДН+Н++холестерол	0,83±0,03	1,30±0,01
" + KNO ₃ +НАДФН+Н++холестерол	0,80±0,01	1,16±0,01

* KNO₃—0,36 М; НАД(Ф)Н+Н+—4,2·10⁻³ мМ; холестерол 2·10⁻³ М; продолжительность инкубации—3 ч, t—26°, темнота; повторность каждого варианта опыта шестикратная

Если допустить, что в условиях непрерывного потока ионов аммония во внутрь клетки активируются пути дальнейшего отвода аммиака, то и в этом случае центральную роль должна играть система глутамат \rightleftharpoons α -кетоглутарат.

Таблица 2

Изменение глутаматдегидрогеназных активностей листьев виноградной лозы и юкки славной под влиянием холестерина*

Направление реакции	Число активных единиц глутаматдегидрогеназы на 1 мг белка/мин			
	в виноградной лозе		в юкке славной	
	контроль	холестерол	контроль	холестерол
Восстановительное аминирование α -кетоглутарата	24,2±0,53	72,9±0,38	34,1±0,36	86,2±0,33
Окислительное дезаминирование глутамата	15,6±0,28	60,2±0,33	25,3±0,33	78,6±0,29

* KNO₃—0,36 М; α -кетоглутарат и глутамат—4,7·10⁻⁴ М; холестерол—2·10⁻³ М; (NH₄)₂SO₄—две капли насыщенного раствора. Условия опыта: фосфатный буфер pH 7,8 (при аминировании α -кетоглутарата) и pH 8,4 (при дезаминировании глутамата); t—30°, темнота; повторность каждого варианта опыта семикратная

При выяснении роли холестерина в процессе окисления 5-¹⁴C-глутамата оказалось, что он стимулирует включение радиоактивной метки в некоторые продукты окисления и амидирования. Присутствие KNO₃ делает более радиоактивными глутамин, аспартат, α -кетоглутарат и аспарагин (табл. 3).

Увеличение радиоактивностей образовавшихся аспартата и аспарагина из 5-¹⁴C-глутамата под влиянием холестерина нельзя считать следствием ускорения окисления последнего через цитратный цикл.

Как известно, оксалоацетат в клетках содержится в каталитических малых количествах [14], и нам кажется, что при наличии избытка ионов аммония образование аспартата, помимо основного процесса переаминоирования, в листьях исследуемых растений может происходить за счет следующих реакций:

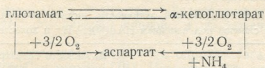


Таблица 3

Изменение распределения радиоактивной метки $5\text{-}^{14}\text{C}$ —глутамата в некоторых продуктах окисления и амидирования под влиянием холестерина в листьях виноградной лозы и юкки славной*

Вариант опыта	Радиоактивность веществ 10^3 имп/мин на 1 г материала							
	Виноградная лоза				Юкка славная			
	α -кетоглутарат	аспартат	аспарагин	глутамин	α -кетоглутарат	аспартат	аспарагин	глутамин
$5\text{-}^{14}\text{C}$ —глутамат	0,85	0,96	0,42	3,44	0,72	0,44	0,24	1,23
+ KNO_3	1,44	1,38	0,66	4,24	1,03	0,53	0,32	1,75
+ KNO_3 + холестерол	1,92	1,70	1,20	6,10	1,45	0,91	0,70	2,25

* KNO_3 —0,36 М; глутамат— $7,8 \cdot 10^{-3}$ М 2 мкКи радиоактивностью; холестерол $2 \cdot 10^{-3}$ М. Условия опыта: фосфатный буфер рН 6,5; продолжительность 3 ч, темнота, $t=30^\circ$. Инкубация проводилась в респирометрах аппарата Варбурга

О пользе этого соображения свидетельствует усиление потребления кислорода в процессе дыхания на 12—15%.

Активирующее действие холестерина на процесс восстановления неорганического азота подтвердилось и масспектрометрическими измерениями с участием в опытах K^{15}NO_3 (табл. 4).

Таблица 4

Обогащение тяжелым азотом (в %) некоторых продуктов окисления и амидирования под влиянием холестерина в листьях виноградной лозы*

Варианты опыта	Аминокислоты и их амиды							
	свободные				связанные			
	глутамат	глутамин	аспартат	аспарагин	глутамат	глутамин	аспартат	аспарагин
Фосфатный буфер + K^{15}NO_3	1,15	1,90	1,24	2,65	1,50	2,77	1,36	2,13
Фосфатный буфер + K^{15}NO_3 + холестерол	2,25	2,22	1,93	3,59	2,29	1,40	1,84	0,98

* Концентрация веществ и условия опыта те же, что и в табл. 3

Из таблицы видно, что холестерол способствует стводу акцептированного азота и включению его в продукты окисления и амидирования эндогенного глутамата. Процентные данные показывают, что в при-

сутствии холестерина образование и связывание меченого глутамата и аспартата происходит с одинаковой интенсивностью. С другой стороны, значительно ограничивается связывание вновь синтезированного глутамина и аспарагина, вследствие чего на 16% уменьшается и общее обогащение белков мечеными продуктами. Вероятно, в присутствии холестерина увеличивается внутриклеточное содержание свободных амидов, так как образованные глутамат и аспартат преимущественно используются в синтезе белка.

Полученные нами данные указывают на то, что воздействие холестерина на восстановление неорганического азота должно иметь весьма сложную природу, так как регуляция носит не конкурирующий, а стимулирующий характер. В связи с этим мы изучили окислительный распад холестерина в условиях стимулированной ассимиляции азота (табл. 5).

Таблица 5
Окисление 4-¹⁴C холестерина в присутствии KNO₃*

Вариант опыта	Радиактивность углекислого газа Δ ¹⁴ CO ₂ , <i>имп/мин</i>	
	Виноградная лоза	Юкка славная
4- ¹⁴ C—холестерол	138,3±9,98	114,4±3,94
4- ¹⁴ C—холестерол+KNO ₃	151,0±8,20	120,5±3,20

* Концентрации веществ и условия опыта те же, что и в табл. 3; повторность каждого варианта опыта семикратная

Из табличных данных видно, что при усиленной биологической ассимиляции неорганического азота, окислительный распад холестерина не подвержен никаким изменениям. Это еще раз указывает на отсутствие конкуренции в данных процессах из-за НАДФН+Н⁺. Вероятно, гидроксिलирование холестерина и ассимиляция азота в клетках листьев изученных растений происходит в различных компартментах и каждый имеет самостоятельный источник НАДФН+Н⁺.

Как известно, для первичной фиксации неорганического азота за основной источник этого кофермента принят пентозный цикл [8]. Поэтому мы сочли целесообразным изучить также функционирование данного пути окисления глюкозы при участии в реакционной среде холестерина. Полученные результаты приведены в табл. 6.

Низкие значения величины C₆/C₁ коэффициентов указывают на существование разных путей окисления С-1 С-6 углеродных атомов глюкозы в листьях изученных растений, т. е. на наличие пентозного цикла. Под влиянием холестерина в листьях виноградной лозы коэффициент C₆/C₁ становится равным 0,5, а в листьях юкки славной — 0,6. Это указывает на уменьшение функционирования пентозного цикла примерно на 7—12% [2].

Аналогичные результаты были получены при определении удельных активностей глюкозо-6-фосфатдегидрогеназы. Оказалось, что холестерол в листьях обоих растений на 20% подавляет каталитическую активность данного фермента в течение проводимой трехчасовой инкубации.

Таким образом, суммируя экспериментальные данные, полученные нами, можно сделать вывод, что в присутствии холестерина активируется нитратредуктазная и глутаматдегидрогеназная активности и по-

давляется глюкозо-6-фосфатдегидрогеназная реакция. Этот результат дает возможность предполагать, что редуктазы и дегидрогеназы участвующие в процессе ассимиляции неорганического азота, не должны использовать НАДФН+Н⁺, образованный в пентозном цикле.

Таблица 6

Изменение величин C_6/C_1 коэффициентов и активности глюкозо-6-фосфат-дегидрогеназы под влиянием холестерина в листьях виноградной лозы и юкки славной

Растительный объект	Величины C_6/C_1 коэффициентов		Активность глюкозо-6-фосфатдегидрогеназы (образовавшийся НАДФН+Н ⁺ мкг/1мг белка/мин)	
	контроль	холестерол	контроль	холестерол
Листья виноградной лозы	0,3±0,02	0,5±0,03	0,20±0,01	0,16±0,01
Листья юкки славной	0,5±0,02	0,6±0,01	0,27±0,01	0,21±0,02

* Реакционная среда—5%-ный раствор глюкозы; продолжительность опыта—3 ч, t—30°, темнота; 1-¹⁴C и 6-¹⁴C глюкоза 2 мкКи радиоактивностью. Повторность каждого варианта опыта — шестикратная

Восстановленный в пентозном цикле никотинамидный кофермент, вероятно, не участвует и в реакциях гидроксирования холестерина. Ранее нами было показано, что окислительный распад этого стерола в листьях растений в основном происходит митохондриально [3], а восстановленный в растворимой фракции клетки НАДФН+Н⁺ непроницаем для митохондриальной мембраны. Поэтому вполне возможно, что в процессах гидроксирования холестерина и азотфиксации в листьях растений должен реализоваться НАДФН+Н⁺, образованный впутримитохондриально: 1) при обратном переносе электронов в трансдегидрогеназной реакции; 2) в процессе превращения изоцитрата в α-кетоглутарат НАДФ-зависимой митохондриальной изоцитратдегидрогеназой или малата в пируват митохондриальным малик-энзимом.

ЛИТЕРАТУРА

1. Барнард Д. Современная масспектрометрия, ИЛ, М., 1975.
2. Бобохидзе Е. А., Гордезиани М. Ш. Изв. АН ГССР, сер. биол., 3, 3, 232—237, 1977.
3. Бобохидзе Е. А., Гордезиани М. Ш., Дурмишидзе С. В. Рес. публиканская научная конференция по вопросам биохимии сельских озязственных растений, Тезисы докладов, Тбилиси, 1976, 147.
4. Гордезиани М. Ш. Сообщения АН ГССР, 10, 2, 363—368, 1968.
5. Дурмишидзе С. В. Расщепление ароматического кольца некоторых экзогенных соединений в растениях, «Мешиереба», Тбилиси, 1975.
6. Дурмишидзе С. В. Тезисы докладов IV научной сессии Лаборатории биохимии растений АН ГССР, Тбилиси, 1970, 41.
7. Дурмишидзе С. В., Бериашвили Т. В. ДАН СССР, 220, 3, 729—732-1975.
8. Кретович В. Л. Обмен азота в растениях, «Наука», М., 1971.
9. Крицман М. Г., Конников А. С. Индукция ферментов в норме и патологии, «Медицина», М., 1968.
10. Мешкова Н. П., Северин С. Б. Практикум по биохимии растений, «Советская наука», М., 1950.

11. Номенклатура ферментов. Рекомендации международного биохимического союза, ВИНИТИ, М., 1966.
12. Нуцубидзе Н. Н. Ассимиляция азота виноградной лозой, «Мецниереба», Тбилиси, 1974.
13. Сидоренков И. В., Гильмиарова О. Н., Радомская В. М., Шпигель А. С. Бюлл. exper. биол. и мед., 11, 52—53, 1974.
14. Скулачев В. П. Аккумуляция энергии в клетке, «Наука», М., 1969.
15. Яковлева В. И., Кретович В. Л., Гильманов М. К. Биохимия, 29, 3, 896, 1964.
16. Glock B. E., McLean P. Nature, 170, 119, 1952.
17. Heftmann E. Lipids, 6, 2, 128—133, 1971.
18. Knights B. A. Chemistry in Britain, 9, 3, 106—110, 1973.
19. Mylder E. G., Voxma R. and Van Veen K. L. Plant Soil, 10, 335, 1959.

ქოლესტეროლის გავლენა მცენარეული უჯრედის ზოგადი ფერმენტული სისტემის აქტივობაზე

ს. ღურმუშიძე, მ. გორდეზიანი, ე. აბოხიძე

საქართველოს სსრ მეცნიერებათა აკადემიის მცენარეთა ბიოქიმიის ინსტიტუტი, თბილისი

რეზიუმე

ვაზისა და იუკას ფოთლებში შესწავლილ იქნა, თუ ეგზოგენური ქოლესტეროლი რა გავლენას ახდენს არაორგანული აზოტის ასიმილაციასა და გლუკოზის ჟანგვის პენტოზოფოსფატურ გზაზე. დადგენილ იქნა მცენარეული მასალის აზოტმასაბილირებული უნარის მნიშვნელოვანი ზრდა, როცა სარეაქციო არეში ქოლესტეროლთან ერთად არის ნაღვ $H+H^+$. აღმოჩნდა, რომ პარალელურად ძლიერდება გლუტამატდეჰიდროგენაზული აქტივობა და რეაქცია გლუტამატის ჟანგვითი დეჰამინირებისაკენ არის გაღაწეული.

აღნიშნული ამინომჟავადან ჟანგვისა და ამიდირების პროდუქტთა წარმოქმნა-დაგროვება დადასტურდა მასსპექტრომეტრული გაზომვებითაც, $K^{15}NO_3$ -ის გამოყენებით.

ქოლესტეროლი პენტოზური ციკლის ოქსიდაზურ ფაზაზე დამატრგუნველად მოქმედებს: მისი გავლენით 20%-ით მცირდება გლუკოზო-ნ-ფოსფატდეჰიდროგენაზის კატალიზური აქტივობა.

გამოყვანილ იქნა დასკვნა, რომ აზოტფიქსაციისა და ქოლესტეროლის ჰიდროქსილირების რეაქციებში ხდება მიტოქონდრიული და არა პენტოზური ციკლში აღდგენილი ნაღვ-ის გამოყენება. გარდა ამისა, ამ ორ პროცესს შორის არ შეიმჩნევა კონკურენტული მექანიზმის არსებობა მოცემულ კონფერმენტზე.

EFFECT OF CHOLESTEROL ON THE ACTIVITY OF SOME PLANT CELL ENZYMATIC SYSTEMS

S. V. DURMISHIDZE, M. Sh. GORDEZIANI, E. A. BOBOKHIDZE

Institute of Plant Biochemistry, Georgian Academy of Sciences, Tbilisi, USSR

Summary

The influence of exogenous cholesterol on the assimilation of inorganic nitrogen and on the pentosophosphate pathway of glucose oxidation in the lea-

ves of grape-vine and *Jucca gloriosa* has been studied. It has been ascertained that nitrogen-assimilating capacity of the plant material is highly increased in the reaction medium with cholesterol in the presence of $\text{NADPH} + \text{H}^+$. Glutamate dehydrogenase activity increases in parallel and the reaction is shifted to the oxidative desamination.

The formation-accumulation of the products of oxidation and amidation from the above amino acid has been confirmed by mass spectrometric measurements in the presence of K^{15}NO_3 .

Cholesterol depresses the oxidative phase of pentose cycle. The catalytic activity of glucose-6-phosphatedehydrogenase is decreased by 20% under its influence.

It is concluded that in the reactions of nitrogen fixation and cholesterol hydroxylation mitochondrial NADP is used and not that reduced in pentose cycle; no competitive mechanism being observed between these two processes for the given coenzyme.

УДК 591.553

БИОХИМИЯ

ВОЗРАСТНЫЕ ОСОБЕННОСТИ НАРУШЕНИЯ УГЛЕВОДНОГО БАЛАНСА КРОВИ НА ФОНЕ АЛЛОКСАНОВОГО САХАРНОГО ДИАБЕТА

Н. И. Онишвили, К. Н. Патарая

Тбилисский государственный медицинский институт, ЦНИЛ

Поступила в редакцию 3.6.1977

Изучены возрастные изменения содержания сахара в крови у животных трех различных возрастных групп в условиях нормы и на фоне аллоксанового сахарного диабета, а также возникновение и течение диабета, выражающегося гипергликемией, в возрастном аспекте.

Полученные данные обрабатывали методом вариационной статистики. Экспериментальные исследования показывают, что содержание сахара в крови здоровых животных остается в пределах нормы с увеличением возраста. А при аллоксановом диабете содержание сахара в крови значительно увеличивается по сравнению с нормой, особенно у животных неполовозрелого возраста. Показано, что заболеваемость животных диабетом постепенно увеличивается с возрастом. Проявление легкой и средней формы аллоксанового сахарного диабета увеличивается с возрастом, а тяжелой — уменьшается.

В связи с нарастающей частотой заболеваемости проблема сахарного диабета до настоящего времени остается одной из основных в эндокринологии. Несмотря на это, еще недостаточно изучены возрастные особенности при сахарном диабете. Для выявления роли возрастного фактора большое значение имеют эксперименты на животных.

В литературе данные о содержании сахара в крови здорового кролика разные и колеблются от $95,3 \pm 0,9$ мг% до 120 ± 11 мг% [2, 4, 8, 11, 12]. Исследования некоторых авторов [2, 3, 5, 12] показали, что содержание сахара в крови здоровых животных не меняется по возрасту. Разные авторы эксперимент проводили в разных условиях, животные брали неодинаковых по возрасту, весу, породе; была различна и методика определения сахара в крови. Принимая это во внимание, кроликов для опытов выбирали соблюдая вышеуказанные требования.

Для создания экспериментальных моделей сахарного диабета в настоящее время предложены различные методы: удаление поджелудочной железы, введение химических веществ и т. д. Но некоторые из них имеют существенные недостатки, что ограничивает их применение. Многими авторами указано преимущество аллоксанового диабета перед другими методами, как более близкого своими последствиями к сахарному диабету человека. Поэтому в наших исследованиях пользовались моделью аллоксанового диабета.

Имеющиеся в литературе данные о заболеваемости животных аллоксановым диабетом довольно разнообразны. Например, по С. Лей-

тесу [6] стойкий диабет у крыс не превышает 35,0%, по И. Соколовой [10] заболеваемость диабетом у крыс с возрастом постепенно увеличивается от 64,5% в первые дни после рождения до 85,1% у животных с продолжительностью жизни более 1 года. По Катаоко Куничи [13] у крыс в 77% случаев развивается диабет, а Лисевски и др. отметили, что при введении 90 самцам-кроликам аллоксана у 49 из них развилась тяжелая форма диабета, у 27 — легкая форма, а у 14 не наблюдалось никаких изменений в обмене веществ [14]. В доступной нам литературе мы не нашли описания заболеваемости и течения аллоксанового диабета кроликов по возрасту.

Мы поставили перед собой задачу экспериментально исследовать возрастные изменения содержания сахара в крови как в нормальных условиях, так и при аллоксановом диабете, а также возникновение и течение сахарного диабета в возрастном аспекте.

Опыты проводились на интактных кроликах-самцах трех различных возрастных групп: в первую группу были включены животные в возрасте от 3,5 до 8 месяцев (неполовозрелые), во вторую — от 8 до 30 месяцев (репродуктивный период); в третью от 3 до 5 лет и старше (период выраженных старческих изменений). Такие же возрастные группы выбиралась при экспериментальном (аллоксановом) сахарном диабете.

Животные находились в одинаковых условиях содержания и питания. Под опытом находилось 127 кроликов. Из них 52 служили нормой (контрольная группа) для установления возрастных особенностей, а 75 кроликам по возрастным группам вводили аллоксан. Аллоксан вводили медленно, внутривенно, в свежеприготовленном 5%-ном водном растворе, в дозе 150 мг на кг веса животного. Во всех сериях опытов метод получения аллоксанового диабета был одинаков.

При хранении аллоксан почти всегда бывает окисленным, что придает ему высокую токсичность и вызывает большой процент гибели животных. С целью очистки препарата производили его многократную (5—6-кратную) перекристаллизацию из водного раствора. Для определения общего сахара кровь брали из краевой вены уха кролика. Сахар в крови определяли натощак. Для измерения как нормального уровня сахара в крови, так и после введения аллоксана нами был использован феррицианидный метод (по Хагедори-Иенсену), который успешно применяется рядом авторов и рекомендован в списке унифицированных методов анализа сахара в крови [7].

Таблица 1
Содержание сахара в крови кроликов в условиях нормы и при аллоксановом диабете в возрастном аспекте (в мг%)

Статистические показатели	До введения аллоксана			После введения аллоксана		
	I	II	III	I	II	III
$M \pm m$	100,5 ± 4,1	105,6 ± 2,6	107,9 ± 4,8	524,4 ± 23,3	372,0 ± 18,5	357,9 ± 23,5
<i>n</i>	18	17	17	16	18	16
<i>p</i>	<0,001	<0,001	<0,001	<0,001	<0,001	<0,001

Примечание: I, II, III — возрастные группы животных

В том случае, когда указанная доза у кроликов не вызывала диабета, аллоксан вводили им повторно через неделю.

В табл. 1 приведены статистически обработанные данные содержания сахара в крови в возрастном аспекте как в условиях нормы, так и при аллоксановом диабете.

Из наших экспериментальных данных сравнительного анализа (табл. 2а) видно, что содержание сахара в крови здоровых кроликов второй группы больше на 5,1%, чем у животных первой группы, но эта разница статистически недостоверна ($p > 0,2$). При сравнении содержания сахара в крови по группам видно, что у животных третьей группы количество сахара в крови в норме составляет $107,9 \pm 4,8$ мг%, что на 7,4% больше, чем у животных первой группы, и на 2,2% больше, чем у животных второй группы. Интересен тот факт, что разница в содержании сахара в крови животных первой и третьей группы больше (7,4%), чем у животных первой и второй группы (5,1%), а у животных второй и третьей группы она наименьшая (2,2%). Как видно из наших данных, в норме замечается тенденция к увеличению содержания сахара в крови с возрастом. Однако это увеличение не является статистически достоверным и не дает возможности прийти к определенному заключению.

Таблица 2

а) Сравнительный анализ содержания сахара в крови (в мг%) в условиях нормы в возрастном аспекте

Показатели сравнения	Сравниваемые группы		
	I-----II	I-----III	II-----III
Животные (норма)	$100,5 \pm 4,1$	$100,5 \pm 4,1$	$105,6 \pm 2,6$
Животные (норма)	$105,6 \pm 2,6$	$107,9 \pm 4,8$	$107,9 \pm 4,8$
Разница абсолютная	5,1	7,4	2,3
Разница в %	5,1	7,4	2,2
p	$> 0,2$	$> 0,2$	$> 0,5$

б) Сравнительный анализ содержания сахара в крови (в мг%) при аллоксановом диабете в возрастном аспекте

Животные (диабет)	$524,4 \pm 23,3$	$524,4 \pm 23,3$	$372,0 \pm 18,5$
Животные (диабет)	$372,0 \pm 18,5$	$357,9 \pm 23,5$	$357,9 \pm 23,5$
Разница абсолютная	152,4	166,5	14,1
Разница в %	29,1	31,8	3,8
p	$< 0,001$	$< 0,001$	$> 0,5$

в) Сравнительный анализ содержания сахара в крови (в мг%) в условиях нормы и при аллоксановом диабете

Показатели сравнения	Сравниваемые группы		
	I-----I	II-----II	III-----III
Животные (норма)	$100,5 \pm 4,1$	$105,6 \pm 2,6$	$107,9 \pm 4,8$
Животные (диабет)	$524,4 \pm 23,3$	$372,0 \pm 18,5$	$357,9 \pm 23,5$
Разница абсолютная	423,9	266,4	250,0
Разница в %	421,8	252,3	231,7
p	$< 0,001$	$< 0,001$	$< 0,001$

Из сравнительного анализа (табл. 2б) видно, что у животных с аллоксановым диабетом наблюдается уменьшение содержания сахара с увеличением возраста, причем самый большой процент уменьшения количества сахара в крови (31,8%) наблюдается при сравнении его содержания между I и III группами (это уменьшение статистически достоверно — $p < 0,001$).

Как видно из табл. 2в, содержание сахара в крови у подопытных животных с аллоксановым диабетом заметно увеличивается по сравнению с нормой (контрольная группа). Надо отметить, что особенно большая разница в содержании сахара в крови наблюдается при сравнении экспериментальных данных в норме и при аллоксановом диабете у животных первой группы — 421,8% (вторая группа — 252,3%; третья — 231,7%). Для всех величин получена большая достоверность ($p < 0,001$).

Таблица 3
 Ответная реакция кроликов различных возрастных групп на введение диабетогенных доз аллоксана

Возраст кроликов	Общее число кроликов	Число кроликов, погибших после инъекции аллоксана	Число кроликов, оказавшихся резистентными к аллоксану	Число кроликов заболевших диабетом	Заболеваемость диабетом в %
от 3,5 до 8 месяцев	27	6	5	16	59,3
от 8 до 30 месяцев	27	5	4	18	66,7
от 3 до 5 лет	21	3	2	16	76,2
Всего в %	75	14	11	50	66,7

По нашим экспериментальным данным (табл. 3) после введения аллоксана у 50 (66,7%) из 75 подопытных кроликов развились симптомы диабета: гипергликемия, глюкозурия, снижение веса тела, животные становились вялыми, появлялась сильная жажда, усиливался аппетит; 14 кроликов (18,7%) погибли в течение первых 2—3 суток, скорее от токсического характера аллоксана, чем от диабетогенного состояния. 11 кроликов (14,7%) оказались резистентными к инъекциям аллоксана: уровень сахара в крови у них не изменялся, не наблюдались симптомы диабета. Животные первой группы (неполовозрелые) бурно реагировали на введение аллоксана. У некоторых животных первой и второй групп диабет развивался лишь после двух- или трехкратного введения аллоксана. В этом возрасте животные отличались повышенной устойчивостью к диабетогенному влиянию аллоксана, что согласуется с данными литературы [1, 9, 10]. В табл. 3 приводятся данные заболеваемости диабетом кроликов различных возрастных групп после введения аллоксана.

Как видно, ответная реакция кроликов на диабетогенные дозы аллоксана в известной мере зависит от возраста. По нашим наблюдениям заболеваемость диабетом у кроликов постепенно увеличивается с возрастом, что согласуется с литературными данными [10]. Характер течения аллоксанового диабета в различные возрастные периоды определяется различной реактивностью организма. По характеру течения аллоксанового диабета у кроликов различаются легкая, средняя и тяжелая формы. Критерием тяжести диабета служили: уровень гипергликемии, глюкозурия, потеря в весе животных. С тяжелой формой диабета кролики жили недолго, признаки диабета по состоянию были выявлены более четко, животные становились вялыми. В табл. 4 приведены показатели тяжести аллоксанового диабета, выражающиеся гипергликемией по возрастным группам. К легкой форме диабета были отнесены кролики, у которых уровень сахара в крови натощак в течение нескольких дней не превышал 280 мг%. Для первой группы это составляло 6,5%; для второй — 11,1%; а для третьей — 12,5%.



У кроликов с аллоксановым диабетом средней тяжести содержание сахара в крови было в пределах 281—380 мг%. Для возрастных групп средняя форма диабета составляет для первой группы 12,5%; для второй — 27,8%, а для третьей — 37,5%.

Таблица 4

Процентные показатели тяжести аллоксанового диабета выражающиеся гипергликемией по возрастным группам животных

Сахар в крови в мг%	Возрастные группы животных		
	I	II	III
До 280	6,3	11,1	12,5
281—380	12,5	27,8	37,5
381 и выше	81,2	61,1	50

Тяжелая форма диабета с уровнем гликемии натощак 381 мг% и выше проявляется у кроликов первой группы в 81,2% случаев, второй группы — 61,1%, а третьей — 50%. Как видно из табл. 4, имеется соответствие между проявлениями отдельных форм диабета и возрастом животных.

Таким образом, самый высокий процент тяжелого диабета наблюдается у неполовозрелых животных (81,2%), постепенно уменьшаясь для животных второй (61,1%) и третьей (50%) группы. А заболеваемость животных легкой и средней формой аллоксанового диабета постепенно увеличивается по возрасту.

ЛИТЕРАТУРА

1. Баранов В. Г., Соколоверова И. М. Бюлл. exper. биол. и мед., 62, 10, 35—37, 1966.
2. Богацкая Л. Н., Фролькис В. В., Богущ С. В., Шевчук В. Г. В сб.: Старение и физиологические системы организма, Киев, 1969, 111—117.
3. Гацко Г. Г. Мат. III Всесоюз. съезда геронтологов и гериатров, Киев, 1976, II.
4. Глухарев А. Г. Лаб. дело, 2, 110—112, 1965.
5. Григоров Ю. Г., Медовар Б. Я. Геронтология и гериатрия. Старение клетки, Киев, 1971, 413—419.
6. Лейтес С. М. Успехи совр. биологии, 29, 21—46, 1950.
7. Методические указания по применению унифицированных методов исследования в клинических лабораториях, М., 1973, 62.
8. Петрова А. Н. Биохимия, 17, 4, 469—475, 1952.
9. Соколоверова И. М. Проблемы эндокринологии и гормонотерапии, 4, 2, 3—8, 1958.
10. Соколоверова И. М. Экспериментальные данные к патогенезу возрастных особенностей сахарного диабета. Автореф. канд. дисс., Л., 1963.
11. Суворов А. П., Кудин Г. Б., Должников Л. Т. Лаб. дело, 8, 507—508, 1968.
12. Фролькис В. В. Приспособительные возможности стареющего организма, Киев, 1968, 11—44.
13. Kataoka Kunizo. J. Jap. Soc. Intern. Med., 47, 6, 637—644, 1958.
14. Lisewski G., Mohnike G. Endokrinologie, 38, 5—6, 297—305, 1959

ნ. ონიაშვილი, ა. პატარაია

თბილისის სახელმწიფო სამედიცინო ინსტიტუტის ცენტრალური
სამეცნიერო-კვლევითი ლაბორატორია

რ ე ზ ი უ მ ე

სამი ასაკობრივი ჯგუფის შინაური კურდღლების სისხლში შვეისწავლი-
ლით შაქრის კონცენტრაციას ნორმის პირობებში და ალოქსანით გამოწვეული
დიაბეტის დროს; ჰიპერგლიკემიის შესწავლით ვარკვევდით აგრეთვე ექსპე-
რიმენტული დიაბეტის წარმოშობისა და მიმდინარეობის სურათს.

ცდისეულად გაირკვა, რომ ჯანმრთელი შინაური კურდღლის სისხლში
შაქრის ნორმალური რაოდენობა არ იცვლება ასაკის მიხედვით, ხოლო ალოქ-
სანით გამოწვეული დიაბეტის დროს შაქარი საგრძნობლად მატულობს, გან-
საკუთრებით სქესობრივად მოუმწიფებელი ცხოველის სისხლში.

შინაური კურდღლის შაქრიანი დიაბეტით დაავადების სიხშირე იზრდება
ასაკთან ერთად და 76,2%-ს აღწევს ბებერ ცხოველებში. ამ დროს მხედვე-
ლობაშია მისაღები დაავადების სიმძიმე: ასაკთან ერთად იზრდება დიაბეტის
მსუბუქი და საშუალო ფორმით დაავადება, ხოლო მძიმე ფორმით დაავადე-
ბის რაოდენობა, პირიქით, მცირდება 81,2%-დან 50%-მდე.

THE EFFECT OF AGE ON THE DISTURBANCE OF BLOOD SUGAR BALANCE DURING ALLOXAN DIABETES

N. J. ONIASHVILI, K. N. PATARAIA

Central Research Laboratory, Medical Institute, Tbilisi, USSR

S u m m a r y

Changes of blood sugar value in rabbits of three different age groups under the «normal» condition and in the course of alloxan diabetes were studied.

In normal rabbits of different age groups no changes of blood sugar value was observed, whereas during the alloxan diabetes, especially in the blood of immature animals, the sugar content is significantly increased.

The incidence of the experimentally induced diabetes increases with age. The incidence rate increases during mild and medium forms of alloxan diabetes and decreases during severe experimental disease.

УДК 581.12

ФИЗИОЛОГИЯ РАСТЕНИЙ

АНТОЦИАНОВЫЕ ПИГМЕНТЫ КОРНЕЙ НЕКОТОРЫХ ДРЕВЕСНЫХ РАСТЕНИЙ

Э. Н. Кецховели

Институт ботаники АН ГССР, Тбилиси

Поступила в редакцию 10.3.1977

Работа посвящена исследованию антоцианов водяных корней некоторых древесных растений. Изучена топография антоцианов в меристематических клетках, в зоне растяжения и в зоне всасывания, их качественный состав, а также динамика образования этих пигментов в корнях.

Способность образовывать антоцианы присуща всем органам растений: стеблям, листьям, прилистникам, различным частям цветочных органов, плодам [15]. Примером особо обильного содержания антоцианов могут служить корнеплоды свеклы и редиса, турнепса и, в какой-то мере, моркови. Однако работы по изучению образования антоцианов корнеплодов и установлению биохимических свойств этих пигментов весьма малочисленны [22, 36, 42]. В этой связи изучение пигментации водяных корней некоторых древесных растений вызывает значительный интерес.

ОБЪЕКТ И МЕТОДИКА

Объектом исследования служили корни мужских и женских особей ивы (*Salix alba* L.), тополя пирамидального (*Populus gracilis* Grossh.) и ольхи бородатой (*Alnus barbata* С. А. М.). Для сравнения изучались «световые» — окрашенные корни, которые были расположены в воде в условиях дневного освещения, и «темновые» — бесцветные корни, которые находились тоже в воде, но в поверхностном слое почвы или же под камнями. Корни мужских и женских экземпляров ивы, тополя и ольхи изучались в весенний, летний и осенний периоды.

Топография антоцианов изучалась анатомически. Срезы делались от руки по трем зонам корней и просматривались в смеси глицерина с водой (1:1). Зарисовки делались рисовальным аппаратом Аббе.

Качественный анализ пигментов клеточного сока корней и листьев проводился методом бумажной хроматографии [29, 47—49]. Идентификация антоцианов проводилась на хроматографической бумаге «Ватман № 3», «Ленинградская медленная» и «Ленинградская быстрая».

Для количественного определения антоциановых пигментов плотность растворов проверялась на спектрофотометре «СФ-4А» в пределах 516—532 нм. Количество антоциановых пигментов (суммарно) определялось при помощи номограммы, составленной по чистому перларгонидину, так как мы предполагали, что из трех пятен на двухмерной хроматограмме корней ивы превалирующим является перларгонидин с максимумом поглощения при 526 нм [11].

pH кашицы из окрашенных и бесцветных корней определялся на аппарате «ЛП-5».

Учет газообмена окрашенных и бесцветных корней производился манометрическим методом Варбурга при температуре 30°C, так как указанная температура благоприятна для фотосинтеза и дыхания растений, произрастающих в южных районах СССР [11]. Газообмен учитывался через каждые 15 мин, продолжительность определения равнялась одному часу.

Полученные данные обрабатывались количественно. Для оценки статистической достоверности найденных разниц пользовались t-критерием Стьюдента [2].

РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

Топография антоциановых пигментов в корнях. Антоциановыми пигментами заполнены все меристематические клетки зоны деления окрашенных корней мужских и женских особей ивы. Это явление кажется немного парадоксальным, если вспомним, что антоцианы являются побочными продуктами обмена и содержатся в клеточном соке — в вакуолях [13, 15]. Однако, как известно, клетки апикальной меристемы заполнены густой цитоплазмой. Вакуоли, если они имеются, мелкие и рассеяны в этой цитоплазме [28]. Так как по нашим данным антоциановые пигменты, безусловно, присутствуют в меристематических клетках зоны деления корней, то их изучение, несомненно, поможет расширению знаний о физиологической роли антоциановых пигментов, о формах антоцианов, типах их локализации в различных тканях и даже о пластидном происхождении флавоноидных пигментов [6, 15, 25, 34, 39, 44, 45, 50].

В зоне растяжения корня антоцианы занимают периферическую часть первичной коры — приблизительно 8—9 ярусов клеток. Единичные клетки с подобными скоплениями антоцианов встречаются и в первичной флоэме.

В зоне всасывания эпидермис выделяется чуть темным содержимым. Под эпидермисом все клетки содержат блестящие ярко-розовые антоциановые капли. Далее следует 2—3 ряда паренхимных клеток, также содержащих антоциановые пигменты.

Сравнение антоцианосодержащих корней ивы и тополя показывает, что распределение красящих веществ по тканям разных зон корней, несмотря на некоторые отличительные черты, носит одинаковый характер. Это позволяет заключить, что красные пигменты корней должны обслуживать схожие процессы, протекающие как в корнях ивы, так и в корнях тополя.

Покраснение корней. Начало образования антоциановых пигментов в виде еле заметной розовой окраски кончиков корней ивы в естественных условиях наблюдается почти через сутки с момента их извлечения из под камней. Далее покраснение распространяется выше — в зону растяжения, и на пятые сутки корни почти целиком окрашиваются в бледно-розовый цвет. Характерная окраска корней отмечается на 7—8 сутки.

Максимум накопления антоцианов между первым и четвертым днем освещения лучами различной длины волны в культурах ткани побегов *Narlorappus* отмечается Рейнертом и др. [46]. В культуре ткани эндосперма кукурузы видимая окраска появляется уже через 6 ч после помещения ткани на свету [52]. Вообще скорость образования антоцианов является линейной функцией интенсивности света как при непрерывном, так и при прерывистом освещении [24, 26, 27]. Интересно, что появление антоциановой окраски некоторыми авторами связывается и с процессами роста [17, 30, 52, 53].

Кроме того, выявилось определенное различие в отношении окрашивания бесцветных корней мужских и женских особей ивы. Хотя образование антоцианов в кончиках корней (даже двухлетних черенков) мужских и женских особей при естественном освещении отмечается одновременно, дальнейшее образование — накопление антоцианов происходит гораздо интенсивнее у корней женских особей.

Биосинтез антоцианов в бесцветных корнях, очевидно, явление очень важное и может носить приспособительный характер.

Качественный анализ антоциановых пигментов. В окрашенных корнях ивы и тополя, корнях и листьях ольхи содержится по три антоциановых пигмента.

На двухмерных хроматограммах розово-фиолетовых корней тополя из трех антоциановых пигментов первый — густо-малиновый и содержится в большом количестве, второй — бледно-малиновый (в виде следов), а третий — также бледно-малиновый, но содержится в среднем количестве. Из листьев и сережек *Populus tremula* также выделены 3 антоциана [31]. Они оказались производными цинанидина. Интересно, что в женских сережках и в пестиках найдены все три антоциана, а в мужских сережках и тычинках — только два пигмента.

В темно-красных корнях ольхи первый пигмент густо-малиновой окраски и содержится в большом количестве, второй — бледно-малиновой окраски, а третий — очень слабой розовой окраски; его наличие на хроматограммах часто можно ставить под вопрос. В красных листьях ольхи первый пигмент густо-малиновой окраски, второй — малиновой окраски, а наличие третьего пигмента сомнительно.

В окрашенных корнях мужских и женских особей ивы первый антоциановый пигмент винного цвета и содержится в большом количестве, второй пигмент бледно-розовой окраски, а третий — сиреневой окраски и находится в виде следов.

Хотя в литературе не встречаются данные по изучению антоциановых пигментов корней ивы, но антоциановые пигменты коры [35], лейкоантоцианы и фенольные гликозиды листьев ивы не остались без внимания исследователей [32]. Было исследовано 19 видов ивы в связи с классификацией рода *Salix* (с привлечением химических показателей). Оказалось, что содержание антоцианов в коре *Salix* показывает некоторую разницу между видами [35]. Лейкоантоцианы же обнаружены в 18 видах. Лейкоцианидин — лишь в 6 видах, остальные содержали как лейкоцианидин, так и лейкодельфинидин. Фенольные гликозиды обнаружались во всех испытываемых тестах [32].

Как выяснилось, кора *Salix alba var. vitellina nova* и листья *Salix alba var. Cardinalis* содержали по одному антоциановому пигменту [35], тогда как, согласно нашим определениям, антоцианы окрашенных корней мужских и женских особей *Salix alba* L. представлены тремя пигментами.

Антоциановые пигменты корней ивы и тополя, корней и листьев ольхи нами не идентифицированы, но спектрофотометрическое исследование этих пигментов показало, что красные пигменты корней дают максимум поглощения в той области спектра, которая соответствует максимумам поглощения антоциановых пигментов. Так, антоциановые пигменты корней тополя и ольхи, листьев ольхи в 50%-ном этаноле, подкисленном 0,1 N HCl, соответственно имеют следующие максимумы поглощения: 530,5, часто 527, 529 и 528 м. Антоциановые пигменты окрашенных корней ивы в метаноле, подкисленном 0,01% HCl, имеют максимумы поглощения при 530, иногда при 528 или же при 524 м. Спектры поглощения данных пигментов не меняются и при прибавлении 5% AlCl₃.

Первый антоциановый пигмент корней ивы в 50%-ном этаноле, подкисленном 0.1 N HCl, имеет максимум поглощения при 526 н.м. осенью и 528,5 н.м. летом.

Полученные нами данные дают возможность предположить, что из трех пятен на двухмерных хроматограммах корней ивы преобладающим является пеларгонидин с максимумом поглощения при 526 н.м.

Интересно, что рН не определяет степени окраски корней ивы. Кроме рН, окраска может определяться и многими другими факторами [41].

Количественное содержание антоциановых пигментов. Изучение количественного содержания антоцианов должно было выявить ту половую дифференциацию, которая могла бы существовать, но не выявилась при качественном исследовании антоциановых пигментов розовых и красных корней мужских и женских особей ивы. Этот вопрос представлял интерес и по той причине, что в литературе, за некоторым исключением [3, 34], не встречаются указания о количественном содержании антоцианов и об их динамике в корнях в течение вегетации.

Пигменты анализировались в весенний и осенний периоды года. Летом с высыханием речки корни гибнут.

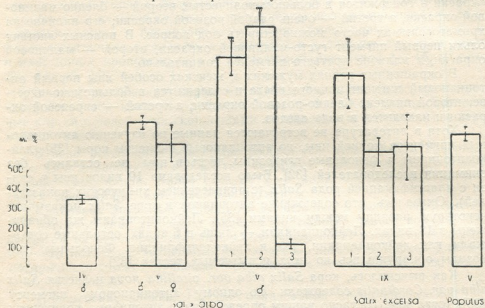


Рис. 1. Содержание антоциановых пигментов в окрашенных корнях и различных зонах корней (1 — зона деления, 2 — зона растяжения, 3 — зона всасывания) мужских (♂) и женских (♀) особей ивы и тополя в мг на 100 г сухого веса весной (IV — апрель, V — май) и осенью (IX — сентябрь) 1970 года ($p < 0,05$)

Оказалось, что в красных корнях мужских особей ивы весной максимум антоциановых пигментов приходится на зону растяжения, а минимум — на зону всасывания (табл. 1). Эта закономерность сохраняется и при пересчете пигментов на абсолютно сухой вес. В корнях женских растений антоциановый пигмент равномерно уменьшается к основанию, а при пересчете красных пигментов на абсолютно сухой вес оказывается, что в зоне деления и в зоне растяжения содержится примерно одинаковое количество антоцианов, тогда как в зоне всасывания их в 1,6 раза меньше. Кроме того, количественное сравнение

антоцианов ясно показывает, что в корнях женских особей красных пигментов почти вдвое больше [1, 9] при пересчете на сырой вес и почти в полтора раза больше [1,4] при пересчете на абсолютно сухой вес, чем в корнях мужских особей.

Осенью (октябрь—ноябрь) характер распределения антоциановых пигментов по зонам меняется как в корнях мужских растений, так и в корнях женских особей (таблица).

Таблица
Содержание антоцианов в разных зонах красных корней мужских и женских растений ивы

Объект	Зона	Май, 1968		Октябрь, 1967		Ноябрь, 1967	
		мг на 100 г		мг на 100 г		мг на 100 г	
		сырой вес	сухой вес	сырой вес	сухой вес	сырой вес	сухой вес
<i>Salix alba</i> L. ♀	Кончики	62	705	31	399	51	461
	Зона растяжения	66	892	51	736	33	277
	Зона всасывания	53	420	24	191	41	240
<i>Salix alba</i> L. ♂	Кончики	101	878	51	458	51	422
	Зона растяжения	91	883	52	438	42	399
	Зона всасывания	79	537	35	208	54	389

Сравнение количественного содержания антоцианов розово-фиолетовых корней тополя и розово-красных корней ивы показало, что корни тополя выделяют меньше антоциановых пигментов, чем мужские и женские корни ивы. Эти наблюдаемые различия оказались весьма достоверными. Достоверная разница в содержании антоциановых пигментов корней наблюдается также между растениями разных полов и между различными зонами окрашенных корней (рис. 1). Как видно, в этот срок отмечаются некоторые случаи, когда антоциановых пигментов больше у мужских растений. Последнее обстоятельство объясняется метеорологическими условиями, на которые корни ивы реагируют очень чувствительно.

Таким образом, количественный анализ антоциановых пигментов корней выявил четкую и определенную половую дифференциацию у мужских и женских особей ивы.

Функция антоциановых пигментов. Согласно новейшим данным литературы [5, 9—11, 14, 16, 33, 37, 38, 40, 51] антоцианосодержащие формы растений характеризуются более интенсивным дыханием по сравнению с зелеными формами. Однако следует отметить, что подобная взаимосвязь наблюдается не всегда [18].

В этом аспекте, нам кажется, что антоцианосодержащие и бесцветные корни некоторых древесных растений представляют особый интерес для выяснения роли антоциановых пигментов в окислительно-восстановительных процессах, тем более, что это мнение [1, 20, 21] и сейчас разделяется многими учеными [9—12, 14, 16, 18, 19].

Изучение интенсивности дыхания скрашенных и бесцветных корней мужских и женских особей ивы показало следующее: 1) интенсивность дыхания бесцветных корней превышает таковую у окрашенных корней ивы; 2) не наблюдается параллелизма между высоким содержанием антоциановых пигментов и интенсивностью дыхания; 3) выяв-

ляются четкие половые различия в интенсивности дыхания бесцветных и окрашенных корней мужских и женских экземпляров ивы. Наблюдаемая зависимость дыхания от пола растений оказывается непостоянной и меняется в течение вегетации (рис. 2).

О наблюдаемой зависимости дыхания от пола растений, которая оказывается непостоянной и меняется в течение вегетации, пишут также Л. И. Джапаридзе [4] и А. Г. Сидорский и др. [23].

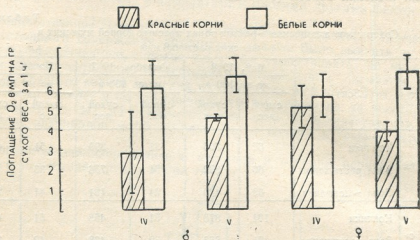


Рис. 2. Дыхание окрашенных и белых корней мужских (♂) и женских (♀) особей ивы весной (IV — апрель, V — май) 1970 года ($p < 0.05$)

Описанные изменения являются статистически достоверными. Вместе с тем, как показывают результаты статистической обработки данных, наблюдается высокая флуктуация интенсивности дыхания (рис. 2). Это, по-видимому, объясняется тем, что в различные пробы могут попасть различными соотношениями разновозрастные корни. Отчасти высокая флуктуация может быть определена сравнительно невысокой точности методикой определения интенсивности дыхания методом Варбурга. Тем не менее, наблюдаемые достоверные различия по сезонам и по полу растений являются весьма убедительными.

Опираясь на данные литературы и собственные исследования, можно было ожидать, что антоциансодержащие корни покажут более интенсивное дыхание, чем бесцветные корни. Мы же наблюдали противоположное явление — бесцветные корни характеризовались более интенсивным дыханием, чем красные. Более интенсивное дыхание бесцветных корней можно объяснить следующим образом: как известно, имеются указания о значительном различии в интенсивности дыхания световых и темновых листьев и о различиях в зависимости от времени суток и погодных условий [43]. Это положение было еще раз экспериментально доказано на обширном материале Л. И. Джапаридзе [4]. В нашем случае оказалось, что темновые корни дышат интенсивнее, чем световые. Как видно, свет ингибирует процессы дыхания корней. Кроме того, нам кажется, что у световых корней должен быть более отличительный субстрат, чем у темновых, тем более, что данные литературы [8] позволяют сделать подобное допущение.

Следует отметить, что в настоящее время роль полифенол-полифенолоксидазной системы в нормальном дыхании растений поставлена под сомнение [13], поскольку этот путь окисления не связан с запасанием энергии [13, 7]. По этой причине в настоящее время считается,

что система полифенол-полифенолоксидаза не принимает участия в нормальном дыхании растений [7]. Однако этот вопрос все еще является предметом дальнейших исследований.

По нашему мнению, с одной стороны, антоциановые пигменты корней являются в какой-то мере светофильтрами, защищающими бледные хлоропласты от сильной инсоляции, сильного перегрева и, с другой стороны, «не исключено, что система полифенолоксидаза-фенильное вещество выполняет важную роль в питании растений кислородом» при их затоплении весной [12].

ЛИТЕРАТУРА

1. Бах А. Н. Сб. трудов по химии и биохимии, М., 1950, 242.
2. Бейли Н. Математика в биологии и медицине, «Мир», М., 1970.
3. Гавриленко В. Б., Рубин Б. А. В сб.: Роль минеральных веществ в обмене веществ и продуктивности растений, «Наука», М., 1964, 272—278.
4. Джапаридзе Л. И. Пол у растений (часть II), «Мещиереба», Тбилиси, 1965.
5. Дурмишидзе С. В. Дубильные вещества и антоцианы виноградной лозы и вина, Изд. АН СССР, М., 1955.
6. Запрометов М. Н., Колонкова С. В. ДАН СССР, 176, 2, 270—273, 1967.
7. Запрометов М. Н. В сб.: Фенольные соединения и их биологические функции, «Наука», М., 1968, 109—128.
8. Карпилов Ю. С. В сб.: Кооперативный фотосинтез ксерофитов, 11, 3, Кишинев, 1970, 46—64.
9. Кецховели Э. Н., Джапаридзе И. Г. Сообщения АН ГССР, 62, 3, 661—664, 1971.
10. Кецховели Э. Н., Джапаридзе И. Г. Сообщения АН ГССР, 68, 3, 669—672, 1972.
11. Кецховели Э. Н. Пигменты коры и древесины, Автореф. докт. дисс., Тбилиси, 1975.
12. Колесников П. А. В сб.: Фенольные соединения и их биологические функции, «Наука», М., 1968, 139—145.
13. Кретович В. Л. Основы биохимии растений, «Высшая школа», М., 1971.
14. Лебедев С. И., Литвиненко Л. Г. В сб.: Пути повышения интенсивности и продуктивности фотосинтеза, «Наукова Думка», Киев, 1966, 85—91.
15. Любименко В. Н., Бриллиант В. А. Окраска растений. Растительные пигменты, «Госиздат», Л., 1924.
16. Майсурян Н. А., Тютюников А. И. Изв. Тимирязевской с.-х. Акад., 3(46), 59—65, 1962.
17. Маргна У. В., Оттер М. Я. Физиология растений, 15, 3, 436—442, 1968.
18. Нагорная Р. В. В сб.: Физиолого-биохимические основы питания растений, 4, «Наукова Думка», Киев 1968, 203—209.
19. Нагорная Р. В. Научные тр. Укр. с.-х. акад., 102, 1974, 19—25.
20. Опари А. И. Биохимия чайного производства, 1, 6, 1935.
21. Палладин В. Н. Физиология растений, «Госиздат», М., 1924.
22. Сибутани, Окамура. Hortie Assoc. Japan, 25, 2, 111—115, 1956.
23. Сидорский А. Г., Сидорская Э. А., Мартынова М. И., Востроконов М. В., Ганин Л. И. Физиология растений, 17, 6, 1265—1268, 1970.
24. Тохвер А. К., Воскресенская Н. П. Физиология растений, 16, 2, 187—195, 1969.
25. Фенольные соединения и их биологические функции, «Наука», М., 1968.
26. Халлон Л., Маргна У. Изв. АН Эст. ССР, сер. биол., 17, 2, 154—163, 1968.
27. Халлон Л., Маргна У. Изв. АН Эст. ССР, сер. биол., 18, 2, 231—233, 1969.

28. Эсау К. Анатомия растений, «Мир», М., 1969.
29. Bate-Smith E. Biochem. J., 58., 122, 1954.
30. Béguin F. Ber. Schweiz. bot. Ges., 74, 267—276, 1964.
31. Bendz G., Haglund A. Acta Chem. Scand., 22, 4, 1365, 1968.
32. Binns W. W., Blunden G., Woods D. L. Phytochemistry, 7, 9, 1477—1581, 1968.
33. Björkman O., Holmgren P. Physiologia plantarum, 11, 1, 154—157, 1958.
34. Bopp M., Matthiess B. Z. Naturforsch., 17b, 12, 811—812, 1962.
35. Bridle P., Stott K. G., Timberlake C. F. Phytochemistry, 9, 5, 1097—1098, 1970.
36. Capite L. Ricerca sci., 25, 7, 2091—2097, 1955.
37. Chrastil T., Petru E. Ceskosl. biol., 5, 6, 334—336, 1956.
38. Eberhardt E. Planta, 43, 4, 253—287, 1954.
39. Gifford E. M., Stewart K. D. Amer. J. Bot., 55, 3, 269—279, 1968.
40. Havelange A., Deleuze G., Schumacker R. Bull. Soc. Roy. sci., Liege, 36, 3—4, 138—148, 1967.
41. Heinze W. Dtsch. Gartenbau, 4, 5, 138—140, 1957.
42. Ishikura N., Hayaschi K. Bot. Magazine (Tokyo), 78, 930, 481—495, 1965.
43. Naubauer H. F. Beich. z. Bot. Zentralblatt, A, 57, 21—36, 1937.
44. Öztig E. Istanbul Univ. fen. fak. mec., B21, 3, 191—197, 1956.
45. Politis T. Bull. Torr. Bot. Club., 86, 6, 1959.
46. Reinert T., Clause H., Ardenne R. V. Naturwissenschaften, 51, 4, 87, 1964.
47. Ribereau-Gayon P. C. R. Acad. Agric. France, 39, 800, 1953.
48. Ribereau-Gayon J. et P. C. R. Acad. Sci. Paris, 238, 2114, 1954.
49. Ribereau-Gayon P. C. R. Acad. Sci. Paris, 250, 591, 1960.
50. Sato Mitsuhiro, Kato Nacko, Hasegawa Masao. Bot. Magazine (Tokyo), 81, 961, 356—361, 1968.
51. Shutak V. G., Hapitan I. C. Plant and Cell Physiol., 10, 1, 217—220, 1969.
52. Straus T. Plant Physiol., 35, 5, 645—650, 1960.
53. Vince D. Planta, 83, 3, 261—279, 1968.

ზოგიერთი მერქნიანი მცენარის ფესვების ანთოციანური პიგმენტები

0. კაცხოველი

საქართველოს სსრ მეცნიერებათა აკადემიის ბოტანიკის ინსტიტუტი,
თბილისი

რ ე ზ ი უ მ ე

ნაშრომში გამოკვლეულია ზოგიერთი მერქნიანი მცენარის წყალში მოზარდი ფესვების ანთოციანური პიგმენტები. შეისწავლბოდა ანთოციანური პიგმენტების ტოპოგრაფია მერისტემულ უჯრედებში, გაჭიმვისა და შეწოვის ზონაში, ამ პიგმენტების წარმოქმნის დინამიკა ფესვებში და ანთოციანური პიგმენტების თვისობრივი შემადგენლობა. ტირიფის მდედრობითი და მამრობითი მცენარეების ფესვების ანთოციანური პიგმენტების რაოდენობრივმა ანალიზმა გამოავლინა, ერთი მხრივ, მკვეთრი და გარკვეული დინამიკა ევგენტაციის მანძილზე და, მეორე მხრივ, მკვეთრი და გარკვეული სქესობრივი დიმორფიზმი.

ANTHOCYAN PIGMENTS OF THE ROOT IN SOME WOODY PLANTS

E. N. KETSKHOVELI

Institute of Botany, Georgian Academy of Sciences, Tbilisi, USSR

Summary

The present study has been devoted to the investigation of anthocyan, watery roots of some woody plants. It appeared that all the meristematic cells in the zone of division contain anthocyan pigment. In the zone of elongation and absorption anthocyan are contained in a peripheral part of the primary cortex. The roots of *Salix alba* L., *Populus gracilis* Grossh. and *Alnus barbata* C. A. M. contain three anthocyan pigments. A spectrophotometric study of these pigments has shown that the red pigments of roots give maximum absorption in the area of spectrum that corresponds to a maximum of absorption of anthocyan. Quantitative analysis of anthocyan in the root pigments has revealed a distinct and definite dynamics during vegetation, and also a distinct and definite sexual dimorphism in male and female *Salix*.

УДК 576.851.48:576.858.9

МИКРОБИОЛОГИЯ

ИЗУЧЕНИЕ ЧАСТОТЫ ОБРАЗОВАНИЯ ФАГОУСТОЙЧИВЫХ ФОРМ *E. COLI* M₁₇

З. И. Алавидзе, Т. Г. Чанишвили

Тбилисский научно-исследовательский институт вакцин и сывороток Министерства здравоохранения СССР

Поступила в редакцию 12.7.1977

Изучена частота образования фагоустойчивости штамма *E. coli* M₁₇ — продуцента препарата колибактерина, как в отношении отдельных клонов фага, так и смеси фагов. Частота фагорезистентности к отдельным клонам фагов варьировала в пределах трех порядков (10^{-5} — 10^{-8}), в случае смеси фагов отмечено снижение образования устойчивых форм до 10^{-10} .

Получен мутантный штамм с множественной фагоустойчивостью с сохранением антагонистических и ферментативных свойств. С приобретением фагорезистентности может резко повыситься его приживаемость в организме человека.

Изучение механизма частоты образования фагоустойчивости имеет большое как теоретическое, так и практическое значение. При разработке данного вопроса можно вскрыть некоторые механизмы сложных взаимоотношений вируса и клетки, а также решить ряд чисто практических задач по улучшению качества лечебно-профилактических препаратов.

Расшифровка механизмов фаговой репродукции, процессов изменчивости вируса и хозяина удалось только после широкого использования бактериологических, генетических, химических и радиобиологических методов исследования [1, 8, 13]. Еще в 1943 году Лурия и Дельбрюк [12], работая с вирулентными фагами, изучали частоту развития устойчивых форм как в популяции, так и в отдельных субкультурах, полученных из очень ограниченного числа микроорганизмов. Применяя этот метод, предложенный Лурия и Дельбрюком [12], Демерек и Фано [11] определили частоту мутации фагоустойчивости в штамме *E. coli* в отношении 7 бактериофагов Т серии. Было установлено, что в процессе одного мутационного акта может проявиться групповая устойчивость. Процент проявления групповой устойчивости может быть таким же высоким, как устойчивость в отношении только одного фага. Накопленный большой фактический материал позволил заключить, что развитие фагоустойчивости, а также изменения других свойств микроорганизмов могут иметь совершенно различные механизмы, в зависимости от того, является фаг вирулентным или умеренным.

В настоящее время причины всех спонтанных мутаций еще не разгаданы, однако, по мнению авторов, для скорости мутации первостепенное значение может иметь наличие в биологической среде таких известных мутагенов, как перекись, формальдегид, ионы двухвалентного железа, азотистая кислота и др. Мутирование в сторону фагорезистен-

ности может проявиться сразу же, что выражается в утрате фагового рецептора. Однако это явление можно наблюдать не во всех случаях. Нередко на фагоустойчивых штаммах происходит адсорбция. В этом случае причину устойчивости нужно искать в нарушении синтетических процессов, происходящих под влиянием генных мутаций.

Для изучения данного вопроса был избран штамм *E. coli* M₁₇ — продуцент препарата колибактерина, эффективность которого во время кишечных заболеваний показана многими исследователями [2, 3, 5, 6, 7].

Целью настоящего исследования являлось изучение частоты устойчивости *E. coli* M₁₇ в отношении отдельных клонов и смеси фагов, а также получение мутантного штамма (с множественной фагоустойчивостью с сохранением антагонистической и ферментативной активности), который будет лучше приживаться в организме человека.

МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ

В опытах были использованы бактериальный штамм *E. coli* M₁₇ и фаги:

1. FM₁₇, выделенный в 1973 г. из препарата колибактерина.
2. Фаг № 2 (чистая линия № 15 из производственной коли-расы Тбилисского НИИВС).
3. Свободные фаги, выделенные из фекального материала детей при изучении путей передачи кишечных инфекций.
4. Фаги Т четной серии и родственные им фаги.

Определение количества фагоустойчивых мутантов по упрощенной методике Чанишвили и Капанадзе

Доказано [9], что результаты, полученные при определении фона устойчивых бактерий, согласуются с данными как Ньюкомба [14], так и флуктуационного теста Лурия и Дельбрюка [12]. Кроме того, определение фагоустойчивых форм в популяции значительно проще, чем постановка опытов по установлению частоты мутации с применением даже относительно несложной методики Ньюкомба. Поэтому в наших опытах мы пользовались только упрощенным методом.

Эмульсию жизнеспособных бактерий *E. coli* M₁₇ на физиологическом растворе в количестве 10⁸—10¹⁰ клеток в 1 мл наносили на поверхность 1,5%-ного питательного агара с 0,2 мл соответствующего бактериофага в титре 10⁸—10¹⁰. Контролем служил посев разведенной эмульсии на агаре без фага. Чашки выдерживали в термостате при 37°C до следующего дня, после чего подсчитывали количество выросших колоний на опытных и контрольных чашках.

Сопоставление числа бактерий, на которое приходилась одна фагоустойчивая клетка до наступления стационарной фазы, с частотой развития фагоустойчивости до наступления стационарной фазы показало, что количество бактерий на один фагоустойчивый мутант дает одни и те же весьма близкие показатели:

$$K = a : \frac{1}{\left(\frac{N}{r}\right)} \approx 0,3.$$

Принимая во внимание разницу, получаемую в отдельных опытах при подсчете частоты фагоустойчивости на одну клетку и на одну генерацию (даже с применением сложных методов вариационной статистики), эти колебания в значении K можно считать незначительными, поз-

Определение частоты фагоустойчивости *E. coli* M₁₇ в отношении отдельных клонов фагов

Таблица 1

Определение частоты мутации	Ф А Г И											
	FM ₁₇	№ 2	T2	T4	ДДVI	клина- ресса № 16	свобод- ный фог № 1	свобод- ный фог № 17	свобод- ный фог № 3	свобод- ный фог № 8	свобод- ный фог № 14	свобод- ный фог № 19
Количество жизнеспособных микроорганизмов (N)	$3,8 \times 10^8$	$6,1 \times 10^8$	$3,1 \times 10^8$	$3,3 \times 10^8$	$2,7 \times 10^8$	$1,4 \times 10^8$	1×10^8	$2,7 \times 10^8$	$2,5 \times 10^8$	$7,6 \times 10^8$	$2,9 \times 10^8$	$2,6 \times 10^8$
Количество фагоустойчивых микроорганизмов в конце опыта (r)	369	71	130	276	20	12	146	415	248	230	72	745
Количество клеток, на которые приходится 1 мутант $\left(\frac{N}{r}\right)$	$1,05 \times 10^6$	$8,7 \times 10^6$	$2,4 \times 10^6$	$1,2 \times 10^6$	$1,3 \times 10^6$	$1,1 \times 10^7$	$6,8 \times 10^6$	$6,5 \times 10^6$	$1,0 \times 10^6$	$3,3 \times 10^6$	$3,6 \times 10^6$	$3,9 \times 10^6$
Частота мутации $a = k \cdot \frac{1}{\left(\frac{N}{r}\right)}$	$3,1 \times 10^{-6}$	$2,6 \times 10^{-6}$	$1,3 \times 10^{-6}$	$2,5 \times 10^{-6}$	$2,3 \times 10^{-6}$	$2,6 \times 10^{-5}$	$4,4 \times 10^{-7}$	$4,6 \times 10^{-6}$	3×10^{-6}	$9,1 \times 10^{-6}$	$8,9 \times 10^{-6}$	$2,5 \times 10^{-6}$

воляющими после установления фона фагоустойчивых мутантов при-
менить формулу $a = K_x \frac{1}{\left(\frac{N}{r}\right)}$, где $K=0,3$ N —число бактерий, r —сред-
нее число фагоустойчивых колоний.

СОБСТВЕННЫЕ ИССЛЕДОВАНИЯ

Во время определения частоты развития фагоустойчивых форм микроорганизмов наибольший интерес представляло сопоставление величин, полученных в отношении разных фагов, обладающих одинаковой активностью.

В табл. 1 приведены результаты по изучению частоты образования фагорезистентных форм *E. coli* M₁₇ к отдельным клонам фагов. Из данных по развитию фагоустойчивости в отношении 25 фагов приведены только наиболее характерные.

Рассматривая полученные данные, можно отметить, что показатели частоты развития фагорезистентности *E. coli* M₁₇ в отношении разных клонов фагов колеблется в пределах трех порядков (10⁻⁵—10⁻⁸).

Определить частоту образования резистентных форм *E. coli* M₁₇ в отношении свободных фагов № 9, 12, 15, 20, 24 не удалось из-за чрезвычайно низкого фона устойчивости.

Таблица 2
Определение частоты фагоустойчивости *E. coli* M₁₇
в отношении смеси фагов

Определение частоты мутации	Смесь фагов			
	I	II	III	IV
Количество жизнеспособных микроорганизмов (N)	$5,5 \times 10^8$	$1,1 \times 10^9$	$1,0 \times 10^9$	$4,2 \times 10^9$
Количество фагоустойчивых микроорганизмов (r)	97	118	16	9
Количество клеток, на которые приходится 1 мутант $\left(\frac{N}{r}\right)$	$5,7 \times 10^6$	$9,3 \times 10^6$	$6,5 \times 10^7$	$4,4 \times 10^8$
Частота мутации $a = K_x \frac{1}{\left(\frac{N}{r}\right)}$	$5,3 \times 10^{-8}$	$3,2 \times 10^{-8}$	$4,5 \times 10^{-9}$	$6,8 \times 10^{-10}$

В дальнейшем изучалась частота устойчивости *E. coli* M₁₇ в отношении смеси фагов, как как в кишечнике человека, по всей вероятности, может встречаться не только один какой-либо фаг, но и различные комбинации фагов:



1. F M₁₇, T2, свободные фаги №№ 1, 2, 3, 4, 5, 7, 16, 23.
2. FM₁₇, T4, коли-фаги № 2, № 16, свободные фаги №№ 6, 8, 11, 14, 13, 22.
3. FM₁₇, ДДVI, коли-фаг № 9, свободные фаги №№ 17, 18, 21, 25, 19.
4. Применяющиеся в опытах — все 25 фагов с титром 10⁸—10¹⁰.

Результаты определения частоты образования фагоустойчивых форм *E. coli* M₁₇ в отношении нескольких фагов в разных комбинациях приведены в табл. 2.

Установлено, что частота развития фагоустойчивости в отношении различных комбинаций фагов оказалась разной: в отношении I группы фагов она равнялась 5,3·10³, II — 3,2·10⁻⁸, III — 4,5·10⁻⁹, а IV — 6,8·10⁻¹⁰.

При сопоставлении полученных результатов с данными предыдущих опытов становится ясным, что смешивание нескольких бактериофагов заметно снижает частоту развития фагоустойчивости, особенно при использовании IV комбинации фагов.

В процессе определения частоты развития фагоустойчивости отбиралась мутантные клоны *E. coli* M₁₇, фагочувствительность которых проверяли в отношении всех 25 фагов, использованных в опытах. Выделено и проверено 2825 клонов. Из них отобрано 3, которые кроме фагорезистентности обладали высокой антагонистической и ферментативной активностью.

ОБСУЖДЕНИЕ

Как было отмечено, основной целью проведенных исследований было изучение фагоустойчивости *E. coli* M₁₇ и выделение мутантного штамма с множественной фагоустойчивостью и сохранением всех защитных и полезных свойств, пригодного для производства препарата колібактерина. Решение поставленной задачи потребовало изучения фагоустойчивости *E. coli* M₁₇ в отношении отдельных клонов фагов и их смесей в разных комбинациях. В силу того, что фагоустойчивые клетки в бактериальной популяции возникают спонтанно — без воздействия вирулентного бактериофага, для отбора фагоустойчивых клонов была использована среда с добавлением фага, на которой устойчивые клетки получали селективное преимущество. В отношении отдельных клонов фага частота фагоустойчивости *E. coli* M₁₇ колебалась от 3,1·10⁻⁵ до 1,3·10⁻⁸. Частота же развития фагорезистентности *E. coli* значительно ниже и варьирует в пределах от 5,3·10⁻⁸ до 6,8·10⁻¹⁰.

Полученные данные полностью согласуются с исследованиями Чанишвили и Капанадзе, которые показали, что частота развития фагоустойчивости *sh. sonnei* разных комбинаций фагов в некоторых случаях остается почти неизменной, а в других она заметно снижается, достигая 4,10⁻¹⁰—8,2·10⁻¹⁰ [9, 10], а также с результатами Мейпариани [4], получившего наиболее низкие показатели образования фагоустойчивости в отношении смеси фагов Флекснера на штаммах *Sh. Sonnei*, *Sh. Dysenteria 2* и *Sh. Newcastle*.

Анализируя полученные данные по фагорезистентности *E. coli* M₁₇ можно заключить, что хотя образование устойчивых клонов является характерным признаком самого штамма, оно зависит также и от применяемого бактериофага.

Получен мутантный штамм с множественной фагоустойчивостью с сохранением антагонистической и ферментативной активности.

Сохранение защитных и полезных свойств *E. coli* M₁₇ и приобретение фагорезистентности к широко циркулирующим в природе бактерио-



ფაგამ პოვსიტ ეგო პრჳჳვაემოხე ვ ორგანიზე ჩოვოეკი, ჩო მჳოჳო სჩიტოთ ოსობენო ვაჳჳო მდია პრაქტიკოსო ვოლჳოვოიო კოლიბაქტერიი.

ლიტერატურა

1. კრჳვისკი ვ. ს. ვ კნ.: გენეტიკა მიკროორგანიზმთ, «მირ», მ., 1963, 123—127.
2. ლავრენოვ ვ. კ. ორეჩბოე დოე, 9, 128—129, 1961.
3. ლარინა ნ. მ., კოჳევიჩკაი ო. ბ., ვილჳანსკაი ფ. ა. კლინიკოსკი მდიცინა, 2, 95—97, 1964.
4. მეიპარიანი ა. ნ. სოვრენიე პრინციპი პროიზოვოდი ვ პრემენიე სუხი ლეჩბო-პროფილაქტიკოსკი დიზენტერიოხი ვ ბრუშნოტიფოზიოხი ბაქტერიოფაგთ, ოტორეფ. დოქტ. დისს., ტბილსი, 1971, 22—26.
5. პერეტც ა. გ. სოვოსკი ორეჩბოე გოზეტი, 14, 1932.
6. პერეტც ა. გ. ჳნიჩენიე ნორმალური მიკროფლორა დია ორგანიზმი ჩოვოეკი, «მირ», მ., 1955, 12—35.
7. რატნერ ს. ი., ვილჳანსკაი ფ. ა. მატ. II ოსოროსიოკი სჳედი ეპიდემიოლოგთ, მიკრობიოლოგთ ვ ინფექციონისტთ, 1966, 180—182.
8. ჳეის ც. გენეტიკა ბაქტერიოხი ვ ბაქტერიოფაგთ, ილ, მ., 1965, 275—345.
9. ჩანიშვილი ტ. გ., კაპანადზე ჳ. ს. სბორნიკ ტრუდთ ტბილნიივის, VI, 1967, 91—98.
10. ჩანიშვილი ტ. გ. ვ კნ.: ოპროსი მოლეკულური გენეტიკი ვ გენეტიკი მიკროორგანიზმთ, «მირ», მ., 1968, 225—241.
11. Demerec M., Fano U. Genetics, 30, 2, 119—125, 1945.
12. Luria S. E., Delbruck M. Genetics, 28, 2, 491—496, 1943.
13. Luria S. E. Cold Spring Harbor Symp. Quant. Bio!., 18, 1, 237—250, 1953.
14. Neuscombe H. Genetics, 33, 5, 447—450, 1948.

E. COLI M₁₇-ის ფაგორეზისტენტული ფორმების წარმოშობის სინშირის შესწავლა

ზ. ალავიძე, თ. ჳანიშვილი

საკეჳმრო ჳანმრთელობის დაცვის სამინისტროს თბილსის ეპქინენიისა დო შრატების სამეცნიერო-კვლევითი ინსტიტუტი

რეზიუმე

შესწავლილია *E. coli* M₁₇ შტამის ფაგორეზისტენტული ფორმების წარმოშობის სინშირე, როგორც ცალკეული ფაგების, ისევე ფაგთა ნარევის მიმართ. ფაგებისადმი მდგრადი ფორმების წარმოშობის სინშირე ცალკეული ფაგების მიმართ ცვალებდობდა 10⁻⁵—10⁻⁸ ფარგლებში, ჳოლო ფაგების ნარევის გამოყენების შემთხვევაში შეინიშნებოდა რეზისტენტული ფორმების სინშირის შემციირება 10⁻¹⁰-მდე.

მიღებულია მრავლობითი ფაგორეზისტენტულობის მქონე მუტანტური შტამი, რომელსაც შენარჩუნებული აქვს ფერმენტაციული დო ანტაგონისტური თვისებები. ფაგორეზისტენტულობა საკმაოდ გავრდის ამ შტამის გამრავლების შესაძლებლობას ადამიანის ორგანიზმში.

STUDY OF THE FORMATION RATE OF *E. COLI* M₁₇
PHAGE-STABLE FORMS



Z. I. ALAVIDZE, T. G. CHANISHVILI

Institute of Vaccines and Sera, USSR Ministry of Health, Tbilisi

S u m m a r y

The formation rate of *E. coli* M₁₇ phage-stable strain, which is the colibacterin preparation producent, was studied in relation to separate phage clones as well as in the phage mixtures. The rate of phage resistancy to separate phage clones varied in the range of three orders (10^{-5} — 10^{-8}), but in the case of phage mixtures the formation of stable forms lowered up to 10^{-10} .

A mutant strain with multiple phage resistancy which retained antagonistic and fermentative properties has been obtained. The multiplicity of the strain in the human body may increase sharply with acquired phage resistancy.

УДК 612.112.94.017

ИММУНОЛОГИЯ

ЗАВИСИМОСТЬ ВЫСВОБОЖДЕНИЯ Т-ЛИМФОЦИТАМИ ФАКТОРА ИНГИБИЦИИ СТВОЛОВЫХ КЛЕТОК ОТ МАКРОФАГОВ

Д. Р. Каулен, С. А. Ригвава, Т. А. Голованова, Е. Б. Мысякин,
И. А. Георгадзе

Институт экспериментальной медицины им. Н. Ф. Гамалеи АМН СССР, Москва;
НИИ вакцин и сывороток МЗ СССР, Тбилиси

Поступила в редакцию 25.4.1977

Клетки тимуса сингенных доноров, обработанные *in vitro* антилимфоцитарным глобулином (АЛГ), высвобождают в среду гуморальный фактор, угнетающий способность стволовых гемопоэтических клеток образовывать кроветворные колонии в селезенках смертельно облученных (830 рад) мышей. Показано, что А-клетки (макрофаги), независимо от происхождения последних (перитонеальные или из ткани селезенки), играют существенную роль в высвобождении фактора ингибиции стволовых клеток (ФИСК). Так, добавление макрофагов к клеткам тимуса или селезенки ведет к усилению высвобождения ФИСК'а, тогда как изъятие А-клеток заметно снижает его высвобождение. Предполагается, что интенсивность высвобождения ФИСК'а Т-лимфоцитами зависит от присутствия и, вероятно, активного функционирования А-клеток.

Прежними работами [2, 4] было показано, что обработанные АЛГ лимфоидные клетки, прежде всего тимоциты, высвобождают ФИСК. Последний, при применении *in vitro*, для обработки трансплантата (клетки костного мозга) угнетает способность гемопоэтических стволовых клеток образовывать очаги кроветворения в селезенках смертельно облученных (830 рад) сингенных реципиентов.

Настоящая работа преследовала цель изучить влияние А-клеток (макрофаги селезенки или клетки перитонеального экссудата) на высвобождение ФИСК'а тимоцитами, обработанными АЛГ. Полученные результаты свидетельствуют об активном участии интактных А-клеток в изучаемом процессе. Результаты дают основание сделать вывод о том, что интенсивность высвобождения Т-клетками ФИСК'а зависит от присутствия и, вероятно, активного функционирования А-клеток.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Антилимфоцитарную сыворотку (АЛС) получали путем внутривенной иммунизации кроликов клетками тимуса мышей линии СВА [1]. АЛГ выделяли из АЛС по методу Зепезауэра [5].

В работе был применен метод клонирования кроветворных клеток [7]. В экспериментах в качестве доноров и реципиентов были использованы гибриды (СВА × С57В1) F₁ весом 20—24 г, самцы.

Трансплантируемые клетки костного мозга обрабатывали ФИСК'ом. За 4 ч до внутривенного введения клеток мышей-реципиентов облучали в дозе 830 рад.

Через 9 суток после облучения и трансплантации гемopoэтических клеток животных забивали, извлекали селезенки и подсчитывали макроскопически видимые колонии на поверхности органа.

Для получения клеток перитонеального экссудата донорам интраперитонеально вводили тиогликолевый бульон (5 мл). Спустя 72 ч, когда подавляющее большинство клеток перитонеального экссудата составляли макрофаги (до 80%), под висцеральный листок брюшной полости вводили среду 199, затем иглой прокалывали правую нижнюю сторону и брали экссудат. Полученные клетки дважды отмывали.

Селезеночные клетки мышей F_1 (СВА \times С₅₇BL) разделяли на А (прилипающие) и НА (неприлипающие) клетки путем многократного гассирования на пластиковых чашках Фалькон или флаконах Ру [6]. На каждую чашку помещали по $3 \cdot 10^7$ клеток в объеме 3 мл. Инкубировали по 1 ч при 37°C и насыщения газовой смесью: 7% O₂, 10% CO₂ и 83% N. При последней инкубации, после удаления НА-клеток, тщательно смывали адгезировавшиеся клетки.

Для получения суспензии, «обедненной» макрофагами, селезеночную взвесь во флаконах Ру три раза инкубировали при 37°C по 1 ч. Режим адгезии на матрасах был следующим: в 100 мл флакон с площадью дна 42 см² вносили по $5 \cdot 10^7$ клеток в 10 мл среды 199, содержащей 5% эмбриональной телячьей сыворотки. Насыщение газовой смесью было то же, что и при адгезии на чашках. Использовали взвесь после третьей инкубации. ФИСК получали от клеток тимуса, селезенки или перитонеального экссудата. Используемые клетки в концентрации $4 \cdot 10^7$ кл/мл обрабатывали АЛГ (в концентрации 5 мг/мл в течение 30 мин при 37°C), после чего клетки трижды отмывали средой 199. Затем осадок ресуспензировали в 1,5 мл МЕМ и инкубировали в термостате 45 мин для получения активного супернатанта.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Первые эксперименты были посвящены изучению влияния истощения или обогащения А-клеток на способность суспензии клеток селезенки высвобождать ФИСК. Обязательным условием экспериментов было сохранение постоянного числа клеток на мл среды при обработке их АЛГ ($40 \cdot 10^6$ кл/мл), независимо от того извлекались ли А-клетки из обрабатываемой суспензии или добавлялись.

Было показано, что лишение суспензии клеток селезенки А-клеток приводило почти к двукратному снижению активности супернатанта. Ингибция падала с 82% до 44%. В то же время, когда А-клетки были добавлены к клеткам селезенки, ингибирующая активность возрастала на 10% (табл. 1). Следует подчеркнуть статистическую достоверность разницы полученных результатов. Между тем, можно было думать, что оставшиеся после двукратного истощения клетки селезенки теряли свою функциональную активность и это могло отразиться на высвобождении ФИСК'а. В связи с этим был поставлен следующий опыт с «реконструкцией» суспензии клеток селезенки (табл. 2): после адгезии прилипшие клетки осторожно снимали и смешивали с оставшимися во взвеси клетками селезенки. Концентрацию клеток доводили до $4 \cdot 10^7$ кл/мл.

Данные, представленные в табл. 1, 2, показали хорошее совпадение результатов. Однако наиболее важно то, что «реконструкция»

практически полностью восстановила способность клеток селезенки высвобождать ФИСК до уровня активности клеток интактной селезенки (угнетение стволовых клеток 77,9% и 74,7% соответственно).

Таблица 1
Высвобождение ФИСК'а клетками селезенки, обогащенными или лишенными А-клеток, при обработке их АЛГ*

Вещество, используемое для обработки трансплантируемых клеток	Концентрация АЛГ и НГК (мг/мл)	Состав клеток, используемых для получения ФИСК'а	Число клеток $\times 10^6$	Кол-во животных	Число колоний на селезенку		% подавления клонообразования
					$M \pm m$	P	
АЛГ	0,05	—	—	14	$2,1 \pm 0,4$	$< 0,01$	93,1
Супернатант АЛГ	5,0	Сел. + Макрофаги	20+20	11	$2,4 \pm 0,4$	$< 0,01$ $< 0,01$	92,2
"	5,0	Сел. — Макрофаги	40	12	$16,8 \pm 0,6$	$< 0,01$ $< 0,01$	44,5
"	5,0	Сел. (интактная)	40	11	$5,4 \pm 0,4$	+ $< 0,01$	82,2
Супернатант НГК	5,0	Сел. (интактная)	40	13	$30,2 \pm 0,5$	+ —	—
Контроль облучения (эндоклонизация)	—	—	—	10	0	— —	—

* В каждой таблице суммированы данные двух опытов. Обозначения в таблицах: Супернатант АЛГ — ФИСК, полученный после обработки клеток селезенки АЛГ; Сел. — клетки селезенки; Макрофаги — А-клетки. Знаком плюс (+) обозначены группы, к которым рассчитана достоверность

Таблица 2
Высвобождение ФИСК'а клетками „реконструированной“ селезенки при обработке их АЛГ

Вещество, используемое для обработки трансплантируемых клеток	Концентрация АЛГ и НГК (мг/мл)	Состав клеток, используемых для получения ФИСК'а	Число клеток $\times 10^6$	Кол-во животных	Число колоний на селезенку		% подавления клонообразования
					$M \pm m$	P	
АЛГ	0,05	—	—	11	$1,5 \pm 0,4$	$< 0,01$	95,4
Супернатант АЛГ	5,0	Сел. + Макрофаги	20+20	9	$2,8 \pm 1,8$	$> 0,05$ $< 0,01$	91,2
"	5,0	(Сел. — Макрофаги) + Макрофаги	20+20	10	$7,9 \pm 0,6$	$> 0,05$ $< 0,01$	74,7
"	5,0	Сел. — Макрофаги	40	11	$17,3 \pm 0,9$	$< 0,01$ $< 0,01$	44,8
"	5,0	Сел. (интактная)	40	11	$6,5 \pm 0,7$	+ $< 0,01$	77,9
Супернатант НГК	5,0	Сел. (интактная)	40	11	$31,3 \pm 0,5$	— +	—
Контроль облучения (эндоклонизация)	—	—	—	16	0,06	— —	—

Следующие эксперименты преследовали цель выяснить направленность межклеточного взаимодействия, а также значение для высвобождения ФИСК'а числа взятых в обработку клеток.

С целью создания равных условий «клеточной нагрузки» на объем суспензии, в пробирки, где находилось по $20 \cdot 10^6$ кл/мл тимоцитов или макрофагов, добавляли на 1 мл суспензии по $20 \cdot 10^6$ клеток почки. Последние абсолютно неактивны в высвобождении ФИСК'а.

Таблица 3
Влияние кооперации клеток тимуса и клеток перитонеального экссудата на высвобождение ФИСК'а

Вещество, используемое для обработки трансплантируемых клеток	Концентрация АЛГ и НГК (мг/мл)	Состав клеток, используемых для получения ФИСК'а	Число клеток $\times 10^6$	Кол-во животных	Число колоний на селезенку		% подавления клонообразования
					$M \pm m$	P	
АЛГ	0,05	—	—	17	$2,1 \pm 0,4$	$< 0,01$	93,2
Супернатант АЛГ	0,5	М	40	18	$18,1 \pm 0,6$	$< 0,01$	39,8
"	0,5	М(обработ.) + П	20+20	10	$24,0 \pm 0,7$	$< 0,01$	20,0
"	0,5	Т	40	19	$11,4 \pm 0,5$	$< 0,01$	62,1
"	0,5	Т(обработ.) + П	20+20	9	$18,7 \pm 0,9$	$< 0,01$	37,8
"	0,5	Т(обработ.) + М(обработ.)	20+20	17	$7,4 \pm 0,4$	$+ < 0,01$	75,3
"	0,5	Т(обработ.) + + М(инт.)	20+20	9	$14,8 \pm 0,9$	$+ < 0,01$	57,7
"	0,5	М(обработ.) + + Т(инт.)	20+20	18	$23,1 \pm 1,0$	$< 0,01$	22,9
"	0,5	П	40	9	$28,4 \pm 0,6$	$> 0,05$	5,2
Супернатант НГК	0,5	Т	40	15	$30,0 \pm 0,6$	$+$	—
Контроль облучения	—	—	—	14	0	— — —	—

Примечание: М — клетки перитонеального экссудата (макрофаги); Т — клетки тимуса; П — клетки почки.

Полученные результаты показали (табл. 3), что имеет место прямая зависимость активности супернатанта от количества Т-клеток или клеток перитонеального экссудата. Увеличение числа последних в 2 раза (при постоянной дозе АЛГ) приводит к двукратному повышению ингибирующей активности супернатанта. Было установлено, что при совместной инкубации обработанных тимоцитов и обработанных макрофагов ингибирующая активность супернатанта превосходит сумму активностей, полученных только от тимоцитов и только от макрофагов, взятых для инкубации по $20 \cdot 10^6$ кл/мл. Более того, она выше активности супернатанта, полученного при инкубации $40 \cdot 10^6$ клеток тимо-

цитов. Данные статистически достоверны. Наконец, при анализе полученных результатов (табл. 3) обращают на себя внимание две группы, в которых совместно, в соотношении 1:1, инкубировались тимоциты и макрофаги. Особенность заключалась в том, что в одной из них АЛГ были обработаны только тимоциты, а в другой только макрофаги. Можно видеть, что макрофаги усиливают высвобождение ФИСК'а обработанными тимоцитами (процент ингибиции 50,7%) по сравнению с группой, где к обработанным тимоцитам были добавлены клетки почки (угнетение 37,8%). Разница статистически достоверна. В том случае, когда макрофаги были обработаны, а тимоциты интактны, высвобождение ФИСК'а не усиливалось.

Таким образом, экспериментально было показано, что существенная роль в процессе высвобождения ФИСК'а, по-видимому, принадлежит А-клеткам (макрофагам), независимо от происхождения последних (перитонеальные или из ткани селезенки). Было установлено, что добавление макрофагов к клеткам селезенки или тимуса ведет к усилению высвобождения ФИСК'а, а изъятие из суспензии клеток селезенки адгезирующих клеток (макрофагов) приводило к весьма выраженному снижению высвобождения фактора.

Полученные нами результаты не позволяют в настоящее время объяснить механизм действия макрофагов, хотя данные литературы и свидетельствуют о том, что присутствие макрофагов необходимо для выработки некоторых медиаторов лимфоидного происхождения [8] и для синтеза лимфокинов Т- и В-клетками [9].

Анализ наших собственных материалов позволяет говорить не только об участии А-клеток в высвобождении ФИСК'а, но и о том, что имеет место одностороннее влияние макрофагов на Т-клетки. Лишь в том случае, когда Т-клетки обработаны АЛГ, макрофаги стимулируют высвобождение ФИСК'а. При обратной аранжировке эксперимента, т. е. когда АЛГ обработаны макрофаги, а Т-клетки интактны, усиление высвобождения ФИСК'а не было. Полученные нами данные говорят также о том, что при обработке смеси двух видов клеток или совместной инкубации порознь обработанных клеток (например тимоцитов и клеток перитонеального экссудата) имеет место не простое сложение функций этих клеток, а активное взаимодействие, сопровождающееся увеличением высвобождения ФИСК'а. По-видимому можно думать о том, что имеет место межклеточное взаимодействие. В связи с этими данными можно предположить, что макрофаги увеличивают активность лимфоцитов, содействуя их жизнеспособности, возможно, выделяя какой-либо фактор, повышающий метаболическую активность лимфоцитов. Однако бесспорно, что истинность межклеточного взаимодействия и механизм этого процесса требуют дальнейших исследований.

ЛИТЕРАТУРА

1. Каулен Д. Р., Голованова Т. А. Вестник АМН СССР, 7, 33—41, 1970.
2. Каулен Д. Р., Голованова Т. А., Пятыхина Д. П., Хоробрых В. В. Вопросы иммунологии, 6, 47—54, 1974.
3. Chen C., Hirsch J. G. J. Exper. Med., 1972, 136, 3, 604—617.
4. Kaulen D. R., Golovanova T. A., Pyatikhina D. P., Khrobrikh V. V. Folia biologica, 21:95—102, 1975.
5. Zeppezauer F., Brishammar S. Biochim. Biophys. Acta, 94, 2, 581, 1965.
6. Mosier D. E. Science, 158, 1573—1575, 1967.
7. Till L. E., Mac Culloch E. A. Rad. Res., 14, 2, 213—222, 1961.
8. Yoshinaga M., Waksman B. Ann. Immunol. (Paris), 124, C, 97—120, 1973.
9. Wahl S. M., Wilton J. M., Rosenstreich D. L., Oppenheim J. J. J. Immunol., 114, 4, 1296—1301, 1975.

დ. კაულენი, ს. რიგავა, ბ. გოლოვანოვა, ე. მისიაკინი, ი. გიორგაძე

სსრკ ჯანმრთელობის დაცვის სამინისტროს ვაქცინებისა და შრატების სამეცნიერო-კვლევითი ინსტიტუტი, თბილისი;

სსრკ მედიცინის მეცნიერებათა აკადემიის ნ. გამაღვას სახელობის ეპიდემიოლოგიისა და მიკრობიოლოგიის ინსტიტუტი, მოსკოვი

რ ე ზ ი უ მ ე

In vitro ანტილიმფოციტური გლობულინით დამუშავებული სინგენური დონორის თიმუსის უჯრედები გამოჰყოფენ ჰუმორულ ფაქტორს, რომელიც აქვეითებს ლერულ ჰემოპოეზურ უჯრედთა უნარს, რომ წარმოშვან სისხლმბადი კოლონიები სასიკვდილოდ დასხივებული (830 რად) თავების ელენთაში. ნაჩვენებია, რომ A-უჯრედები (მაკროფაგები), იმის მიუხედავად, თუ რა წარმოშობისანი არიან — პერიტონეუმისა თუ ელენთის ქსოვილისაგან, მნიშვნელოვან როლს ასრულებენ ლერულ უჯრედთა მიერ ინჰიბიტორული ფაქტორის გამოყოფაში. ასე, მაგალითად, მაკროფაგებით თიმუსის ან ელენთის უჯრედების გამდიდრება იწვევს ამ ფაქტორის გამოყოფის გაძლიერებას, ხოლო A-უჯრედებით გაღარიბება მნიშვნელოვნად ამცირებს მის გამოყოფას.

ნავარაუდევია, რომ T-ლიმფოციტების მიერ ლერულ უჯრედთა ინჰიბიტორული ფაქტორის გამოყოფის ინტენსივობა დამოკიდებულია A-უჯრედების (მაკროფაგების) არსებობაზე და, შესაძლოა, ამ უჯრედთა აქტიურ ფუნქციონირებაზე.

DEPENDENCE OF THE STEM-CELL INHIBITORY FACTOR RELEASE WITH T-LYMPHOCYTES ON MACROPHAGES

D. R. KAULEN, S. A. RIGVAVA, T. A. GOLOVANOVA, E. B. MISYAKIN, I. A. GEORGADZE

Institute of Vaccines and Sera, USSR Ministry of Health, Tbilisi;

N. F. Gamaleya Institute of Epidemiology and Microbiology, USSR Academy of Medical Sciences, Moscow, USSR

S u m m a r y

The thymus cells of syngenic donors, treated with antilymphocytic globulin (ALG) *in vitro*, release a humoral factor in the medium which inhibits the ability of the hemopoietic stem cells to form colonies in the spleens of lethally irradiated (830 r) mice. A-cells (macrophages) whether they are of peritoneal or spleen tissue origin play an important role in the release of the stem-cell inhibitory factor (SCIF). So, the addition of macrophages to the cells of thymus and spleen results in the increase of the SCIF release, while removal of A-cells considerably decreases the release of this factor. The intensity of the SCIF release with T-lymphocytes is supposed to depend on the presence and, probably, active functioning of A-cells (macrophages).

УДК 577.391

БИОФИЗИКА

ВОЗМОЖНОСТЬ ИСПОЛЬЗОВАНИЯ МЕТОДА СВЕРХСЛАБОГО СВЕЧЕНИЯ ДЛЯ ИССЛЕДОВАНИЯ ГАММА-ОБЛУЧЕННЫХ РАСТЕНИЙ

Г. А. Тарашвили

Научно-исследовательский институт защиты растений МСХ ГССР, Тбилиси

Поступила в редакцию 18.2.1977

Выявлена возможность применения метода сверхслабого свечения для исследования облученных растений на ранних этапах развития лучевой болезни. Показано, что по кинетике интенсивности сверхслабого свечения корешков растений можно определить критические дозы облучения как для семян, так и для проростков. По динамике интенсивности сверхслабого свечения корешков можно судить о развитии лучевой болезни во времени.

Со времени обнаружения сверхслабого свечения растительных и животных клеток число работ по этому вопросу с каждым годом увеличивается. Возрастают интерес ученых к данному вопросу определяется, с одной стороны, высокой чувствительностью метода сверхслабого свечения, с другой — тем, что он позволяет изучать процессы, происходящие в организме на клеточном уровне, не нарушая при этом структурную цельность клеток.

По литературным данным [2, 6] основным субстратом, в котором происходит высвечивание квантов света, являются мембранные липиды (фосфолипиды), а процессом, сопровождающимся сверхслабым свечением, рекомбинация радикалов.

Известно также, что при действии на организм различных повреждающих факторов, таких как ионизирующее излучение, ядовитые вещества и др., в липидных фракциях клеточных мембран происходит окисление ненасыщенных жирных кислот с появлением липоперекисей. Продукты перекисного окисления липидов — свободные радикалы, гидроперекиси и др. — токсичны и в дальнейшем вызывают отравление клеток и целого организма.

В литературе имеются данные о вспышке сверхслабого свечения клеток в момент нанесения повреждения [5].

Целью нашей работы было изучение возможности применения метода сверхслабого свечения для исследования растений, пораженных лучевой болезнью.

ОБЪЕКТ И МЕТОДИКА

В работе использовались два сорта пшеницы: Доли-35-4 и Безостая-1. Растения выращивались на черноземной почве, при комнатной температуре и нормальном освещении. Облучение проводили на установке РХМ-γ-20 (мощность установки 5000 Р/мин). Семена растений облучали в дозах 5000, 10000 и 20000 рад, семидневные проростки в од-

ном случае в дозах 1800, 3600, 5400, 10000 и 15000 рад, в другом в дозах 1800, 2500, 3200, 3900, 4600, 10000 и 15000 рад. Изменение интенсивности сверхслабого свечения корешков растений, выращенных из облученных семян, проводили на 7-й день после посева. Измерение свечения облученных растений проводили в первом варианте опытов через сутки после облучения, во втором варианте, для изучения изменения интенсивности свечения во времени, непосредственно после облучения и через 3 и 6 суток.

Перед измерением интенсивности сверхслабого свечения корешки растений промывали в водопроводной воде, отделяли от проростков и помещали в термостатированной камере в темноте при температуре 28°C. Через 15 мин измеряли интенсивность свечения. При каждом измерении сравнивали интенсивность свечения облученных и контрольных растений.

Корешки в количестве 0,8 г брали с таким расчетом, чтобы они плотным слоем покрывали дно кварцевого стакана, помещенного перед окном ФЭУ.

Измерения проводили на установке, собранной в лаборатории биофизики Института защиты растений. В детекторной части прибора использовался ФЭУ-85, с низким уровнем собственных шумов и сравнительно небольшим коэффициентом усиления. Запись сигнала производилась на автоматическом потенциометре типа КСП-4.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

На рис. 1 дана кинетика сверхслабого свечения корешков проростков, выращенных из гамма-облученных семян. Как видно, при облу-

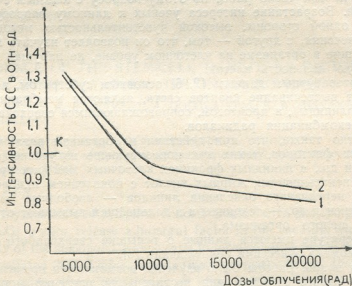


Рис. 1. Кинетика сверхслабого свечения (ССС) корешков проростков, выращенных из облученных семян: 1—Доли 35-4; 2—Безостая 1; К—Контроль

чении семян дозой 5000 рад интенсивность свечения корешков растений, выращенных из облученных семян, возрастает примерно на 30%; при дозе облучения 10000 рад интенсивность свечения понижается и достигает уровня на 15—20% ниже контрольного. Дальнейшее повышение дозы облучения до 20000 рад не оказывает заметного влияния на интенсивность свечения. Вероятно, точка перегиба кривой интен-

сивности сверхслабого свечения корешков показывает ту критическую дозу, при которой замечается сильное угнетение растений.

На рис. 2 дана кинетика сверхслабого свечения корешков семидневных проростков через 24 ч после облучения гамма-лучами. Как видно, интенсивность свечения для обоих сортов пшеницы раз-

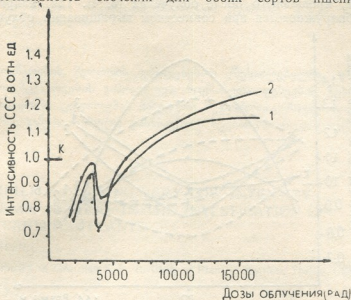


Рис. 2. Кинетика сверхслабого свечения 7-дневных проростков через 24 ч после облучения: 1 — Безостая 1; 2 — Доли 35—4; К — Контроль

лична при разных дозах облучения. При дозе 1800 рад интенсивность свечения понижается примерно на 20%, при дозе 3000 рад достигает промежуточного максимума, после чего уменьшается, достигая примерно 70% от уровня свечения контрольных растений при дозе 4000 рад, а затем вновь повышается и, начиная с дозы облучения в 10000 рад, мало изменяется.

Для злаковых в литературе отмечаются две критические дозы облучения: 3000 рад, при которой явно замедляется рост и развитие растений, и 5000 рад, после которой дальнейшее увеличение дозы облучения не влияет на замедление роста [1]. Можно предположить, что кинетика изменения интенсивности сверхслабого свечения в зависимости от дозы облучения отражает те происходящие в клетке изменения, которые в конечном итоге вызывают замедление роста. Это можно объяснить процессом, развивающимся в клеточных мембранах, и связанными с этим процессом нарушениями нормального метаболизма клеток. Таким образом, по изменению интенсивности сверхслабого свечения корешков можно судить о тех процессах, которые возникают при неблагоприятных воздействиях.

На рис. 3 дана динамика изменения интенсивности сверхслабого свечения корешков проростков, облученных в семидневном возрасте. Для обоих сортов пшеницы при дозах облучения 1800, 3600 и 5400 рад интенсивность свечения в течение первых 72 ч после облучения постепенно понижается, а затем возрастает, достигая через 144 ч уровня примерно на 15—20% ниже свечения контрольных растений для сорта Безостая-1, и на 20—25% выше для сорта Доли 35-4. При дозах облучения 10000 и 15000 рад направление кривой свечения изменяется на

обратное. Амплитуда изменения интенсивности свечения различна для разных доз облучения.

В литературе отмечается, что при изучении влияния облученных растений на необлученные обнаруживается зависимость этого влияния от времени, прошедшего после облучения [3, 4]. Так например, это влияние обнаруживается при совместном выращивании облученных и

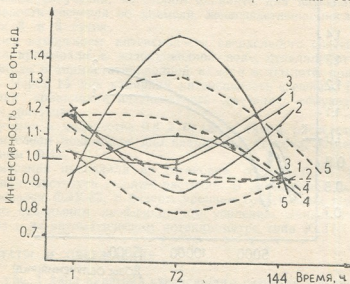


Рис. 3. Динамика изменения интенсивности сверхслабого свечения корешков проростков, облученных в 7-дневном возрасте: К — контроль; 1—1800 рад; 2—3600 рад; 3—5400 рад; 4—10000 рад; 5—15000 рад; — Доли 35—4; - - - - - Безостая I

необлученных растений лишь тогда, когда подсадка производится на третьи сутки после облучения. Сравнивая это положение с нашими результатами, можно предположить, что изменения интенсивности свечения во времени показывают возникновение тех процессов, которые вызывают накопление определенных метаболитов, в дальнейшем влияющих на рост и развитие растений.

Из проведенной нами работы можно заключить: сверхслабое свечение дает возможность установить критические дозы радиоактивных облучений для семян; сверхслабое свечение корешков является одним из показателей состояния растений при воздействии ионизирующей радиации; по динамике сверхслабого свечения можно судить о развитии лучевой болезни во времени.

ЛИТЕРАТУРА

1. Васильев И. М. Действие ионизирующих излучений на растения, Изд-во АН СССР, М., 1962.
2. Журавлев А. И. В сб.: Сверхслабые свечения в биологии (Труды МОИП), 39, 1972, 9—17.
3. Корогодни В. Н., Мамедов Т. Г. Биофизика, 5, 2, 186—189, 1960.
4. Кузин А. М., Крюкова Л. М., Саенко Т. Н., Языкова В. А. Биофизика, 4, 3, 350—353, 1959.
5. Перельгин В. В., Тарусов Б. Н. Биофизика, II, 3, 539—541, 1966.
6. Погосян С. Н., Корецкая Г. Ф., Веселовский В. А. В сб.: Сверхслабое свечение в медицине и сельском хозяйстве (Труды МОИП), 50, 1974, 99—103.



ბ. თარაშვილი

საქართველოს სსრ სოფლის მეურნეობის სამინისტროს მცენარეთა დაცვის სამეცნიერო-კვლევითი ინსტიტუტი, თბილისი

რ ე ზ ი უ მ ე

ზესუსტი ნათების მეთოდის გამოყენებით შესაძლებელია ყ-სხივეებით დასხივებული მცენარეების გამოკვლევა. მცენარეთა ფესვების ზესუსტი ნათების ინტენსივობის ცვლილების მიხედვით შეგვიძლია ვიმსჯელოთ იმაზე, თუ რამდენად არის განვითარებული დასხივებულ მცენარეში რადიაციული დაავადება.

THE POSSIBILITY OF USING VERY LOW INTENSITY LUMINESCENCE METHOD IN THE INVESTIGATION OF GAMMA IRRADIATED PLANTS

G. A. TARASHVILI

Agricultural Ministry of Georgian SSR, Institute of Plant Protection, Tbilisi, USSR

S u m m a r y

Gamma irradiated plants have been studied by means of chemiluminescence analysis.

The kinetics of the intensity of chemiluminescence was shown to be affected by the changes taking place in gamma irradiated plants. It has been found that the dynamics of intensity-changes of chemiluminescence reflects the course of radiation disease. The possibility of using very low intensity luminescence method in the ascertaining of stimulating and lethal doses of gamma irradiation of seeds is discussed.

УДК 547.963.3

БИОФИЗИКА

ВЛИЯНИЕ ИОНОВ МЕДИ НА ПЛАВЛЕНИЕ КОМПЛЕКСОВ ДНК-ГИСТОН

Л. М. Шеварднадзе, М. В. Карселадзе

Институт физиологии им. И. С. Бериташвили АН ГССР, Тбилиси

Поступила в редакцию 28.4.1977

Изучалась тепловая денатурация реконструированных нуклеогистоновых комплексов в присутствии ионов меди. Показано, что комплексы ДНК с разными фракциями гистонов (F2a, F2b, F3) по разному реагируют на присутствие ионов меди. Это указывает на разный характер взаимодействия ДНК с индивидуальными фракциями гистонов. Изучалось также влияние ионов меди на плавление комплексов ДНК со смесью гистонов (F2a+F2b+F3 и F1+F2a+F2b+F3). Предполагается, что взаимодействуя между собой, фракции гистонов, за исключением фракции F1, приобретают свойства отличные от тех, которые характерны для отдельных фракций гистонов в комплексе с ДНК. Что касается гистона F1, то авторы считают, что он связывается с ДНК обособленно, образуя комплекс, который не подвергается влиянию ионов меди.

Биологическая функция хроматина определяется его структурой, которая, в свою очередь, зависит от взаимодействия всех его составных частей, в том числе и гистонов с ДНК. Процесс сборки ДНП *in vivo* происходит в присутствии физиологических концентраций ионов двухвалентных металлов, которые, несомненно, играют важную роль в механизме сборки комплекса ДНК с белками, определяют характер и способ укладки белков, состояние ДНК в ДНП и др. В частности, было показано, что компактность структуры ДНП зависит от концентрации ионов Mg^{2+} в среде [12]. Ионы Ca^{2+} в значительной степени изменяют структуру комплекса ДНК-гистон F3 [17]. Особенности структурной организации 200 Å-й фибриллы ДНП могут быть связаны с наличием в ее составе двухвалентных металл-ионов [3]. Предполагается также, что двухвалентные катионы могут модулировать ДНК-белок взаимодействия [14].

Цель наших исследований — изучение влияния двухвалентных катионов на взаимодействие ДНК с гистонами. В предыдущей работе [4] было показано, что добавление ионов Mn^{2+} , Zn^{2+} и Cu^{2+} к комплексу ДНК-гистон F1 сдвигает первую фазу перехода спираль-клубок, а вторая фаза не изменяется. К тому же, этот эффект более ярко был выражен в присутствии ионов меди, которые обладают сильным дестабилизирующим действием.

В данной работе изучалось влияние ионов меди на тепловую денатурацию реконструированных комплексов ДНК с разными фракциями гистонов.

В экспериментах использовалась пересаживаемая этиловым спиртом ДНК из селезенки крупного рогатого скота (Олайнский завод химреактивов). Конечный препарат ДНК характеризовался молярным коэффициентом экстинкции $E=6500$ и молекулярным весом $\sim 10^6$.

В опытах использовались основные фракции гистонов F1, F2a, F2b и F3 из тимуса теленка (Sigma Chemical Company, USA).

Реконструкцию комплексов ДНК-гистон проводили методом ступенчатого диализа [6]. Раствор ДНК, концентрацию NaCl в котором доводили до 1М, в заданном соотношении (для отдельных фракций гистонов соотношение гистон/ДНК=0,5, а для смеси гистонов—гистон/ДНК=1) смешивали с раствором гистона той же ионной силы. Полученную смесь подвергали градиентному диализу против раствора NaCl с уменьшающейся ионной силой. Конечная стадия диализа проводилась против $1,5 \cdot 10^{-3}$ М NaCl, pH 5,7 в течение 18 ч. Во время диализа раствор в диализном мешке перемешивался механической мешалкой. Диализ проводился при $0-4^{\circ}\text{C}$. Полученный раствор центрифугировали 30 мин при 6000 g, после чего в супернатанте определяли весовые концентрации ДНК и белка.

Количество ДНК определяли спектрофотометрически, принимая OP_{260} для 1 мг ДНК в мл равной 21 [16].

Содержание белка в комплексе определяли по Лоури [11].

Препарат CuCl_2 был квалификации х. ч. Растворы комплексов ДНК-гистон-ион получали путем смешивания исходных растворов до необходимых конечных условий и инкубировали в течение 18 ч при 4°C .

Плавление препаратов проводили в кварцевых кюветах, помещенных в термостатируемую ячейку спектрофотометра EPS-3T «Hitachi»; точность термостатирования $\pm 0,1^{\circ}\text{C}$. За тепловой денатурацией комплексов следили по изменению оптической плотности при 260 нм.

ПОЛУЧЕННЫЕ РЕЗУЛЬТАТЫ

Кривые тепловой денатурации нуклеогистоновых комплексов обнаруживают присутствие двух основных фракций ДНК, различных по чувствительности к тепловому воздействию: 1. термочувствительная фракция ДНК, которая денатурируется в течение первой фазы и является свободной от гистонов частью ДНК; 2. термостойчивая фракция ДНК, которая плавится при более высокой температуре (вторая фаза) и представляет собой связанную с гистонами ДНК.

В таблице приведены характеристические параметры плавления комплекса ДНК-гистон F2b— Cu^{2+} . Видно, что добавление ионов меди вызывает смещение первой фазы плавления комплекса, тогда как вторая фаза почти не меняется.

Тепловая денатурация ДНК является кооперативным процессом. Максимальный наклон кривой плавления является мерой кооперативности денатурации ДНК и имеет отношение к ширине перехода. На рис. 1 показаны кривые плавления комплекса ДНК-гистон F2b без ионов меди и при концентрации $\text{CuCl}_2=8 \cdot 10^{-5}$ М. Видно, что с добавлением ионов две фазы плавления становятся более четко выраженными, к тому же максимальный наклон первой фазы перехода увеличивается, а второй фазы остается неизменным. Так, максимальный наклон при T_m для чистого комплекса равен $6,4 \cdot 10^{-3} \text{ H}_{260}/^{\circ}\text{C}$, а для комплекса с ионами меди— $1,25 \cdot 10^{-2} \text{ H}_{260}/^{\circ}\text{C}$. Максимальный наклон второй

фазы соответственно $8 \cdot 10^{-3} \text{ н}_{260} / ^\circ\text{C}$ и $6 \cdot 10^{-3} \text{ н}_{260} / ^\circ\text{C}$. К тому же при плавлении комплекса в присутствии ионов меди появляется какой-то средний переход.

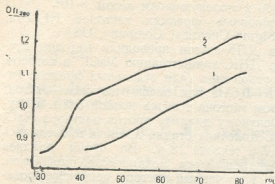


Рис. 1. Кривые плавления комплекса ДНК-гистон F2b. Весовое соотношение F2b/ДНК=0,5. Плавление проводилось в растворе: 1. $1,5 \cdot 10^{-3} \text{ M NaCl}$ и 2. $1,5 \cdot 10^{-3} \text{ M NaCl}$, $8 \cdot 10^{-5} \text{ M CuCl}_2$

Добавление ионов меди к комплексу ДНК-гистон F2a целиком изменяет кривую плавления (рис. 2). При концентрации $\text{CuCl}_2 = 2 \cdot 10^{-5} \text{ M}$

Таблица
Характеристические параметры тепловой денатурации комплекса ДНК-гистон F2b— Cu^{2+} в $1,5 \cdot 10^{-3} \text{ M NaCl}$ (весовое отношение $\frac{\text{F2b}}{\text{ДНК}} \approx 0,5$)

Концентрация CuCl_2 , M	T_{m_1}	ΔT_1	T_{m_2}	ΔT_2
0	54	10	73	11
$2 \cdot 10^{-5}$	58	8	73	10
$4 \cdot 10^{-5}$	46	8	72,5	8
$6 \cdot 10^{-5}$	39	6	74,5	9
$8 \cdot 10^{-5}$	37,5	5	74	8

происходит слияние двух фаз перехода спираль-клубок, а при повышении концентрации ионов смещаются как первая, так и вторая фазы плавления.

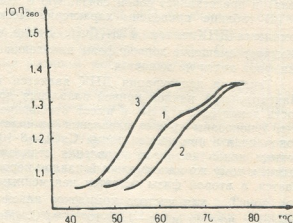
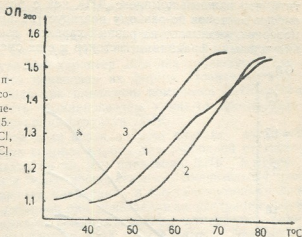


Рис. 2. Кривые плавления комплекса ДНК-гистон F2a. Весовое соотношение F2a/ДНК=0,3. Плавление проводилось в растворе: 1. $1,5 \cdot 10^{-3} \text{ M NaCl}$; 2. $1,5 \cdot 10^{-3} \text{ M NaCl}$, $2 \cdot 10^{-5} \text{ M CuCl}_2$ и 3. $1,5 \cdot 10^{-3} \text{ M NaCl}$, $6 \cdot 10^{-5} \text{ M CuCl}_2$

Совершенно иная картина наблюдается при добавлении ионов меди к комплексу ДНК-гистон F3 (рис. 3). Из рисунка видно, что плавление комплекса в присутствии ионов уже не выявляет двухфазный характер и протекает сравнительно кооперативно.

Рис. 3. Кривые плавления комплекса ДНК-гистон F3. Весовое соотношение F3/ДНК=0,3. Плавление проводилось в растворе: 1. $1,5 \cdot 10^{-3}$ M NaCl; 2. $1,5 \cdot 10^{-3}$ M NaCl, $2 \cdot 10^{-5}$ M CuCl_2 и 3. $1,5 \cdot 10^{-3}$ M NaCl, $6 \cdot 10^{-5}$ M CuCl_2



Изучали также влияние ионов меди на плавление комплекса ДНК со смесью гистонов. Гистоны F2a, F2b и F3 растворяли вместе в определенном соотношении (F2a=44,5%, F2b=30,5% и F3=26% общей массы), а потом смешивали с ДНК и ставили на диализ для получения комплекса. Плавление такого комплекса (рис. 4) выявляет неясный

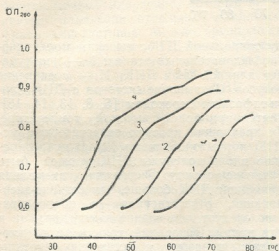


Рис. 4. Кривые плавления комплекса ДНК-смесь гистонов F2a+F2b+F3. Весовое соотношение гистон/ДНК=0,6. Плавление проводилось в растворе: 1. $1,5 \cdot 10^{-3}$ M NaCl; 2. $1,5 \cdot 10^{-3}$ M NaCl, $2 \cdot 10^{-5}$ M CuCl_2 ; 3. $1,5 \cdot 10^{-3}$ M NaCl, $4 \cdot 10^{-5}$ M CuCl_2 ; 4. $1,5 \cdot 10^{-3}$ M NaCl, $6 \cdot 10^{-5}$ M CuCl_2

мультифазный характер. С добавлением ионов меди кривые плавления смещаются целиком, при этом не изменяя значительно форму перехода. Надо отметить, что с увеличением концентрации ионов меди сильно возрастает как гипохромность, так и максимальный наклон кривых плавления. Если же к этой смеси гистонов добавляли и фракцию F1 (30% общей массы), то в плавлении такого нуклеингистонового комплекса обнаруживалась фаза перехода, которая не сдвигается с добавлением ионов меди (рис. 5, последняя фаза плавления). Мы считаем, что она относится к плавлению областей ДНК, связанной с гистон F1.

Из кривых плавления комплексов ДНК-гистон-медь можно заметить, что каждый комплекс ДНК как с разными фракциями, так и с смесью гистонов по-разному реагирует на присутствие ионов меди, что, наверное, указывает на разный характер взаимодействия ДНК с индивидуальными фракциями гистонов и с их смесью.

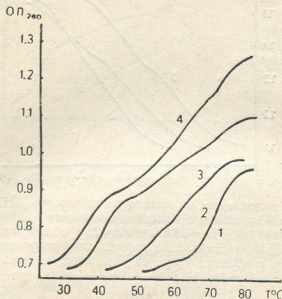


Рис. 5. Кривые плавления комплекса ДНК-смесь гистонов F1+F2a+F2b+F3. Весовое соотношение гистон/ДНК=0,9. Плавление проводилось в растворе: 1. $1,5 \cdot 10^{-5}$ M NaCl; 2. $1,5 \cdot 10^{-3}$ M NaCl, $2 \cdot 10^{-5}$ M CuCl_2 ; 3. $1,5 \cdot 10^{-3}$ M NaCl, $4 \cdot 10^{-5}$ M CuCl_2 и 4. $1,5 \cdot 10^{-3}$ M NaCl, $6 \cdot 10^{-5}$ M CuCl_2 .

Тепловая денатурация двухспиральной ДНК с высоким молекулярным весом протекает в двух последовательных этапах: I — денатурация некоторых лабильных локусов. Связывание гистонов с ДНК приводит к двухфазным или мультифазным переходам [5, 8, 13, 14, 15]. Белок-связанные области плавятся при более высокой температуре, чем свободные части ДНК. Ли предложил простую теоретическую модель тепловой денатурации ДНК, покрытой белками [9]. В нуклеопротеидах кооперативное плавление вдоль молекулы ДНК может быть заблокировано белками, если различие между энергиями связывания белка с нативной и денатурированной ДНК больше, чем стэкинг-энергия взаимодействия пар оснований, ответственная за кооперативность плавления ДНК. Из этого следует, что всякие изменения, как в стэкинг-взаимодействиях между парами оснований, так и во взаимодействиях гистонов с ДНК, должны привести к изменению картины плавления. Этим можно объяснить различное влияние ионов меди на разные комплексы ДНК-гистон.

При низких концентрациях ионы меди могут соединяться с фосфатами ДНК, стабилизируя тем самым структуру ДНК. С повышением концентрации они могут влияться между парами оснований, что вызывает сильную дестабилизацию молекулы ДНК. Соединяясь с основаниями ДНК, ионы меди нарушают и стэкинг-взаимодействие между парами оснований, что уменьшает свободную энергию, необходимую для их разрыва. В плавлении нуклеогистона это должно выразиться в двух сильно различающихся фазах перехода. Если добавление ионов меди уменьшает энергию связывания гистонов с нативной ДНК по сравнению с денатурированной, тогда плавление комплекса будет бо-

лее однородным. Различное влияние ионов меди на плавление нуклеогистоновых комплексов будет более ярким при высоких концентрациях этих ионов, когда они оказывают более сильное дестабилизирующее действие. Из наших опытов следует, что первому случаю может соответствовать плавление комплекса ДНК-гистон F2b—медь, а второму—плавление комплекса ДНК-гистон F3—медь. Плавление комплексов ДНК-гистон F2a и ДНК—смесь гистонов (F2a+F2b+F3) в присутствии ионов меди имеют промежуточный характер. Для них наблюдается смещение кривых плавления без изменения их формы. Появление добавочной средней фазы перехода при плавлении комплекса ДНК-гистон F2b—Cu²⁺ можно объяснить возникновением каких-то промежуточных по стабильности к денатурации структур ДНК.

То, что добавление ионов меди почти во всех случаях вызывает уменьшение ширины перехода спираль-клубок для свободной от гистонов областей ДНК, указывает на то, что плавление ДНК в присутствии ионов меди становится более кооперативным. Значительное увеличение максимального наклона плавления и его гипохромности для комплексов ДНК—смесь гистонов при повышении концентрации ионов меди свидетельствует о каких-то конформационных изменениях, которые не наблюдаются для комплексов ДНК с отдельными фракциями гистонов.

Также надо отметить, что в хроматине, где разные фракции гистонов взаимодействуют как с ДНК, так и между собой и образуют сложные комплексы, наверное, будут проявляться и другие закономерности. Этим можно объяснить и наблюдаемые нами плавления комплексов ДНК со смесью гистонов, когда при добавлении ионов меди получаются кривые плавления, которые не являются простым наложением кривых плавления отдельных комплексов ДНК с индивидуальными фракциями гистонов. Можно предположить, что фракции гистонов, за исключением фракции F1, взаимодействуя между собой, приобретают свойства отличные от тех, которые характерны для отдельных фракций гистонов в комплексе с ДНК. Что касается гистона F1, то мы предполагаем, что он связывается с ДНК обособленно, образуя комплекс, который не подвергается влиянию ионов меди. Поэтому области ДНК, связанные с гистоном F1, плавятся в одном и том же интервале температур, как в присутствии ионов меди, так и без них. Подтверждением нашего предположения могут служить современные данные о структуре хроматина, согласно которой, хроматин обладает структурой, похожей на нитку бус. В образовании бусинок участвуют все фракции гистонов кроме F1-й, которой приписываются различные функции в организации хроматина [1, 7, 16].

В заключение надо отметить, что по отношению к изменениям кривых плавления комплексов ДНК-гистон в присутствии ионов меди просматривается одна закономерность. Добавление ионов меди к комплексам ДНК с богатыми лизином фракциями гистонов (F1, F2b) приводит к одинаковым эффектам (смещение первой фазы перехода и неизменность второй фазы), из чего можно предположить, что эти фракции гистонов или сами не подвергаются влиянию ионов меди, или препятствуют их проникновению к основаниям ДНК. Связь фракции F2a гистона с ДНК более лабильна, а аргинин — богатая фракция F3 вообще не препятствует дестабилизирующему действию ионов меди на ДНК. Это можно связать с тем, что гистоны F2a и F3 содержат дикарбоновые кислоты, которые могут соединять ионы меди, тем самым изменяя как саму структуру молекулы гистона, так и характер их связывания с ДНК. К тому же, гистон F2a содержит сравнительно много ди-



კარბონოვს კისლს, ა გისონ F3 ხარაქტერისეფს იხ ვისკიმ სსდრეჟის
ნემს [2].

ტაკა რაზნისა ინ პსდენის ოდსლსნის ფრეკცის გისონის ინ პრის
სუტსვის დუხვალენტნის იონის მსტოლის მსტე ბის ობსლსენის რის
რისინი ფუნქციის ინ ორგანიზაციის ინ ფუნქციონირისინი ხრომისინის.

ლიტერატურა

1. ვარშავსკის ა. ი. უსლესი სსდრემ. ბიოლოგის. 2, 209—224, 1976.
2. გეორგისევს გ. პ. უსლესი სსდრემ. გენეტიკის, 9, 28—45, 1971.
3. კადისკოვს ვ. ა., კოლომისევისა გ. ი. ა., მანამსხისნ ტ. ა., სენჩენკოვს ე. პ., ჩესისევისა მ. ა. მსლ. ბიოლოგის, 7, 2, 232—241, 1973.
4. სევერდნადეს ლ. მ. ისვ. ან გსსრ, სერ. ბიოლ., 1, 5-6, 479—485, 1975.
5. Ansevin A. T., Brown B. W. Biochemistry, 10, 1130—1142, 1971.
6. Bonner J. J. Mol. Biol., 8, 54—64, 1964.
7. Bradbury E. M. Trends Biochem. Sci., 1, 1, 7—9, 1976.
8. Li H. J., Bonner J. Biochemistry, 10, 1461—1470, 1971.
9. Li H. J. Biopolymers, 12, 287—296, 1973.
10. Li H. J. Nucl. Acids Res., 2, 8, 1275—1289, 1975.
11. Lowry O. N., Rosenbrough N., Farr A., Bandall R. J. Biol. Chem., 193, 265—275, 1951.
12. Meibaum-Katzenellenbogen W., Maskos K. Acta Biochim. Polon., 18, 1, 67—75, 1971.
13. Olins D. E. J. Mol. Biol., 43, 439—460, 1969.
14. Parzynkiewicz Z., Traganos F., Sharpless T., Melamed M. R. J. Cell Biol., 68, 1, 1—10, 1976.
15. Shih T. Y., Bonner J. J. Mol. Biol., 48, 469—487, 1970.
16. Tuan D. Y. H., Bonner J. J. Mol. Biol., 45, 59—76, 1969.
17. Wagner T. E., Vandergrift V. Biochemistry, 11, 8, 1431—1436, 1972.

სპილენძის იონების გავლენა ღწმ-ჰისტონ კომპლესსების ლლობაზე

ლ. შვიპარღნაძე, მ. ქარსლაძე

საქართველოს სსრ მეცნიერებათა აკადემიის ი. ბერიტაშვილის სახელობის ფიზიოლოგის ინსტიტუტი, თბილისი

რეზიუმე

შესწავლილია სპილენძის იონთა გავლენა რეკონსტრუირებულ ნუკლეო-ჰისტონთა კომპლესების სითბურ დენატურაციაზე. ნაჩვენებია, რომ ჰისტონის სხვადასხვა ფრაქციებთან (F2a, F2b, F3) მიერთების შედეგად მიღებული ღწმ-კომპლესები სხვადასხვაგვარად უპასუხებენ სპილენძის იონთა დამატებას, რაც იმის მაჩვენებელია, რომ ღწმ-ის ურთიერთქმედება ჰისტონებთან დამოკიდებულია იმაზე, თუ რა ფრაქციების სახით არიან წარმოდგენილი ჰისტონები. შესწავლილია აგრეთვე, თუ სპილენძის იონები რა გავლენას ახდენენ ღწმ-ისა და ჰისტონთა ნარევით (F2a+F2b+F3 და F1+F2a+F2b+F3) მიღებულ კომპლესთა ლლობაზე. ჩვენი შედეგები საშუალებას გვაძლევს ვივარაუდოთ, რომ ჰისტონის ფრაქციები, F1 ფრაქციის გარდა, ერთმანეთთან ურთიერთქმედებისას იძენენ ისეთ ახალ თვისებებს, რომლებიც არ ახასიათებს ჰისტონის ცალკეულ ფრაქციას ღწმ-თან კომპლესში. F1 ფრაქ-

ცია განსხვავებულად უკავშირდება ღწმ-ს და ქმნის კომპლექსს, რომელზეც დაც სპილენძის იონები არ მოქმედებენ. ნაშრომში მოცემულია შედეგების საერთო ახსნა.



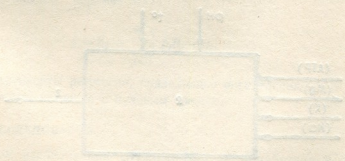
THE INFLUENCE OF COPPER IONS ON THE MELTING OF DNA-HISTONE COMPLEXES

L. M. SHEVARDNADZE, M. V. KARSELADZE

I. S. Beritashvili Institute of Physiology, Georgian Academy of Sciences, Tbilisi, USSR

S u m m a r y

The thermal denaturation of the reconstructed DNA-histone complexes was studied in the presence of copper ions. The DNA complexes with various histone fractions were shown to react differently to the presence of copper ions. The data obtained indicate, that the interactions of DNA with the individual histone fractions are not identical. The influence of copper ions on the melting of DNA complexes with the histone mixture (F2a+F2b+F3 and F1+F2a+F2b+F3) was also studied. It is suggested, that when histone fractions, except fraction F1, are interacting, they acquire the properties distinguished from those which are characteristic of the separate histone fractions in the complex with DNA. As for histone F1, it links with DNA and forms a complex which is not influenced by the copper ions. The possible explanation of the obtained results is offered.



УДК 577.15:57.081.4:007

БИОНИКА И БИОКИБЕРНЕТИКА

ИССЛЕДОВАНИЕ РАБОТЫ Na^+ , K^+ -АТФазной СИСТЕМЫ С ПОМОЩЬЮ МНОГОМЕРНОГО РЕГРЕССИОННОГО АНАЛИЗА*

Я. И. Гонджилашвили, И. Г. Абулашвили

Институт физиологии им. И. С. Бериташвили АН ГССР;

Институт экспериментальной и клинической хирургии МЗ ГССР, Тбилиси

Поступила в редакцию 6.4.1977

В экспериментах, проведенных над микросомами и фракциями синапсомембранных мембран головного мозга крыс, измерялись концентрации АТФ, Mg^{2+} , K^+ , Na^+ (входные переменные) и скорость реакции ферментной системы (выходная переменная). Зависимость между входом и выходом была аппроксимирована с помощью полинома третьей степени. Количественные оценки этих взаимодействий позволили сформулировать ряд новых предположений относительно совместных действий компонентов $[\text{Mg}^{2+}][\text{АТФ}]$, $[\text{Na}^+]^2[\text{K}^+]$, $[\text{K}^+]^2[\text{Na}^+]$, $[\text{Mg}^{2+}]^2[\text{АТФ}]$, в частности выяснилось, что для Na^+ , K^+ -АТФазной системы истинным субстратом, может быть, служит $[\text{Mg}^{2+}][\text{АТФ}]$ комплекс и что она нуждается в большом количестве Mg^{2+} по сравнению с АТФ.

Na^+ , K^+ -АТФазная система является системой с изменяющимися количественными переменными и исследование ее работы приводит к изучению влияния (действительного или предполагаемого) некоторых из них (в частности, концентрации АТФ, Mg^{2+} , K^+ , Na^+) на остальные

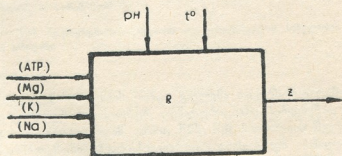


Рис. 1. Схема исследования работы Na^+ , K^+ -АТФазной системы.: $[\text{АТФ}]$, $[\text{Mg}^{2+}]$, $[\text{K}^+]$, $[\text{Na}^+]$ —входные переменные, Z —выходная переменная; pH , температура— постоянные

(в рассматриваемом случае на скорость реакции системы (Z)) при фиксированных значениях pH и температуры. Это влияние может про-

* Авторы выражают благодарность З. П. Кометнани за оказанные им консультации.

явиться и в виде простой функциональной связи между переменными, однако в биологических системах, видимо, существуют функциональные связи, которые слишком сложны как для понимания, так и для их описания простыми терминами.

В таком случае, видимо, следует аппроксимировать функциональные связи с помощью полинома (который включает изучаемые переменные) и сгладить их в некоторой ограниченной области изменения переменных [1].

Исходя из сказанного, Na^+ , K^+ -АТФазная система представляется нами в виде схемы на рис. 1.

Необходимо найти явный вид функции:

$$z = R([\text{АТФ}], [\text{Mg}^{2+}], [\text{K}^+], [\text{Na}^+]), \quad (1)$$

которую после ввода соответствующих обозначений можно представить в виде:

$$y = f(x_1, x_2, x_3, x_4). \quad (2)$$

Анализ работ [7], в которых изучается зависимость скорости реакции Na^+ , K^+ -АТФазы от x_i при фиксированном значении других показывает, что она нелинейна, имеет один максимум и приближается к сигмоидальной форме. Поэтому степень полинома (2) следует выбирать кубической, так как выражения

$$D_1(y) = \frac{\partial y}{\partial x_1}; D_2(y) = \frac{\partial y}{\partial x_2}; D_3(y) = \frac{\partial y}{\partial x_3}; D_4(y) = \frac{\partial y}{\partial x_4},$$

согласно вышеуказанному, должны быть квадратичными. Исходя из этого, развернув (2) в виде уравнения регрессии третьей степени, мы получаем:

$$y = \alpha_0 + \sum_{i=1}^{\lambda} \alpha_i x_i + \sum_{i=1}^{\lambda} \sum_{j=2}^{\lambda} \alpha_{ij} x_i x_j + \sum_{i=1}^{\lambda} \alpha_{ii} x_i^2 + \dots + \sum_{i=1}^{\lambda} \alpha_{iii} x_i^3 \quad (3)$$

или (после замены переменных):

$$y = \beta_0 + \sum_{i=1}^n \beta_i B_i + \varepsilon_j, \quad (4)$$

где β_i — коэффициенты регрессии, подлежащие определению;
 ε_j — случайная величина с нулевым средним.

МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Объектом исследования служили NaJ — обработанные ферментные препараты головного мозга крыс [5], Na^+ , K^+ -АТФазная активность которых измерялась по ранее описанной методике [2].

Концентрации АТФ и Mg^{2+} изменялись от 1,0 до 6,0 мМ, а K^+ и Na^+ от 0,1 до 40 и от 1,0 до 20 мМ соответственно. С целью исключения различных помех, влияющих на протекание реакции, в каждом опыте сохранялась одна контрольная точка со стандартными условиями:

$$[\text{Na}] = 120 \text{ мМ}; [\text{K}] = 20 \text{ мМ}; [\text{Mg}] = 2,5 \text{ мМ}; [\text{АТФ}] = 2,5 \text{ мМ}.$$

В каждой серии проводилось 6 параллельных опытов с цинковой средой на буфере трис-НСI и рН=7,58. Экспериментальные значения $y^{\text{экср}}$, X_1 , X_2 , X_3 , X_4 были использованы для вычисления коэффициентов регрессии уравнения (4). Расчет осуществлялся методом наименьших квадратов, т. е.:

$$\sum_{j=1}^N \left[y_j^{\text{экср}} - \beta_0 - \sum_{i=1}^n \beta_i B_i - \varepsilon_j \right]^2 \rightarrow \min. \quad (5)$$

Задача решалась на ЭВМ «Минск-32», программа для которой была составлена следующим образом. После ввода числовых значений экспериментальных данных

$$(y_j; x_{ij}; i = \overline{1,4}; j = \overline{1,140})$$

осуществлялась замена переменных и исходные результаты преобразовывались, согласно уравнению (4), в двумерный массив $B_{ij} (i = \overline{1,4}; j = \overline{1,140})$, который записывался на магнитной ленте (МЛ). Вектор зависимой переменной $y_j (j = \overline{1,140})$ помещался в виде столбца за массивом В. Затем осуществлялось чтение исходной информации с МЛ и вычисление оценок коэффициентов регрессии. Для вычисления основных статистических характеристик использовалась часть стандартных программ из системы математического обеспечения ЭВМ.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

Статистический анализ экспериментальных данных показывает, что «истинная функция» довольно достоверно аппроксимируется с помощью вычисленных оценок коэффициентов регрессии. Коэффициент Фишера $F=2,01$, что соответствует $P < 0,05$, а ошибка аппроксимации соответствует $\varepsilon=3,6\%$. Кроме того, высокое значение коэффициента множественной корреляции $R=0,786$ подтверждает достоверность полученных оценок.

В таблице приведены характеристики коэффициентов регрессии (свободный член $\beta_0=0,3586788$), которые расположены в зависимости от степени влияния на выходную переменную. Поскольку переменные, входящие в уравнение (3), имеют одинаковую размерность, по числовым значениям коэффициентов регрессии можно судить о силе влияния «входных» переменных, т. е. концентрации АТФ, Mg^{2+} , K^+ , Na^+ на «выходную» переменную, т. е. на скорость реакции Na^+ , K^+ -АТФазной системы.

Анализ данных, приведенных в табл. 1, показывает, что все линейные члены уравнения регрессии $[АТФ]$, $[Mg^{2+}]$, $[Na^+]$, за исключением $[K^+]$, оказывают активирующее влияние на скорость реакции ферментативной системы. Это, очевидно, обусловлено тем, что Na^+ , K^+ -АТФазная система катализирует гидролиз АТФ в двух стадиях: Na^+ зависимое фосфорирование и K^+ зависимый гидролиз фосфофермента [3]. Кроме того, на ранней ступени реакции происходит возникновение

АТФ-ферментного комплекса, который активируется ионами Mg и Na. Ингибирующее влияние свободных ионов K можно объяснить его антагонизмом к ионам Na, что приводит в свою очередь к уменьшению сродства АТФ к ферменту на первой ступени реакции [8].

Таблица
Характеристика компонентов Na⁺, K⁺-АТФазы, оказывающих влияние на скорость реакции ферментативной системы по вычисленным значениям уравнения регрессии

Порядковый номер			Числовые значения коэффициентов регрессии		Обозначения			
по степени влияния	по расположению в уравнении регрессии				натуральные		формальные	
	активаторы	ингибиторы	активаторы	ингибиторы	активаторы	ингибиторы		
1	2	13	0,19767	-0,11812	[АТФ]	[Mg] ²	x ₁	x ₂ ²
2	6	12	0,0784177	-0,0962341	[АТФ] [Mg]	[АТФ] ²	x ₁ ·x ₂	x ₁ ²
3	3	4	0,0510008	-0,0078155	[Mg]	[K]	x ₃	x ₃
4	33	16	0,0121353	-0,0055173	[Mg] ³	[АТФ] ² [Mg]	x ₃ ²	x ₁ ² ·x ₂
5	32	20	0,0097218	-0,0010040	[АТФ] ³	[Mg] ² [K]	x ₃ ²	x ₂ ² ·x ₃
6	9	29	0,0034323	-0,0004611	[Mg] [K]	[АТФ] [Mg] [Na]	x ₂ ·x ₃	x ₁ ·x ₃ ·x ₄
7	10	14	0,0053249	-0,0004608	[Mg] [Na]	[K] ²	x ₂ ·x ₄	x ₃ ²
8	5	28	0,0029574	-0,0002931	[Na]	[АТФ] [Mg] [K]	x ₄	x ₁ ·x ₂ ·x ₃
9	19	21	0,0022223	-0,002382	[Mg] ² [АТФ]	[Mg] ² [Na]	x ₂ ² ·x ₁	x ₂ ² ·x ₄
10	7	18	0,0007322	-0,0001414	[АТФ] [K]	[АТФ] ² [Na]	x ₁ ·x ₃	x ₁ ² ·x ₄
11	8	15	0,0003114	-0,0001164	[АТФ] [Na]	[Na] ²	x ₁ ·x ₄	x ₂ ²
12	11	17	0,0002274	-0,0000940	[K] [Na]	[АТФ] ² [K]	x ₃ ·x ₄	x ₁ ² ·x ₃
13	22	23	0,0000232	-0,0000383	[K] ² [АТФ]	[K] ² [Mg]	x ₂ ² ·x ₁	x ₂ ² ·x ₂
14	25	26	0,0000111	-0,0000148	[Na] ² [АТФ]	[Na] ²	x ₂ ² ·x ₁	x ₂ ²
15	34	31	0,0000057	-0,0000085	[K] ³	[Mg] [K] [Na]	x ₃	x ₂ ·x ₃ ·x ₄
16	35	30	0,0000004	-0,0000055	[Na] ³	[АТФ] [K] [Na]	x ₃ ²	x ₁ ·x ₃ ·x ₄
17	27	24	0,0000002	-0,0000027	[Na] ² [K]	[K] ² [Na]	p ₂ ² ·x ₃	x ₃ ² ·x ₄

Кинетический характер взаимодействия активаторов с ферментами дает основание предположить, что активизирующее влияние кубических членов уравнения регрессии ([АТФ]³, [Mg²⁺]³, [K⁺]³, [Na⁺]³) вызвано быстрым возрастанием скорости ферментативной реакции при малых концентрациях компонентов Na⁺, K⁺-АТФазной системы до наступления насыщения. Однако отрицательный знак перед квадратичными членами уравнения регрессии ([АТФ]², [Mg²⁺]², [K⁺]², [Na⁺]²) указывает на то, что последующее повышение их концентрации вызывает ингибцию реакции, причем [Mg²⁺]² и [АТФ]² оказывают более сильное влияние, чем [K⁺]² и [Na⁺]².

Относительно большой коэффициент регрессии перед смешанной парой компонентов [Mg²⁺] [АТФ] подтверждает тот факт, что для Na⁺, K⁺-АТФазной системы истинным субстратом является комплекс [Mg²⁺] [АТФ] с оптимальным соотношением [Mg²⁺] / [АТФ]=1:1. Кроме того, активирующее влияние оказывают компоненты [Na⁺] [АТФ], [Mg²⁺] [K⁺], [K⁺] [Na⁺] и [K⁺] [АТФ]. Из них первые два обеспечивают стадию фосфорилирова-

ния. $[K^+]$ $[Na^+]$ служат в реакции как аллостерические активаторы фермента. Это означает, что, присоединяясь к ферменту, они меняют форму и поддерживает переходы из одного состояния в другое. В частности, K^+ активизирует стадию дефосфорилирования интермедиата. Кроме того, по существующим предположениям, стадии фосфорилирования (активизированной натрием) предшествует присоединение K^+ к ферменту [6]. Подобными предположениями можно объяснить активизирующее влияние этого компонента.

Поскольку ионы Na и K являются антагонистами (атакующими один и тот же аллостерический участок фермента) и сродство фермента к K^+ больше, чем к Na^+ , избыток Na^+ по сравнению с K^+ улучшает условия работы Na^+ , K^+ -АТФазы; поэтому, согласно уравнению регрессии (табл. 1), $[Na^+]^2 [K^+]$ активизирует, а $[K^+]^2 [Na^+]$ ингибирует ферментативную реакцию. Это, по-видимому, указывает на разные потребности фермента по отношению к Na^+ и K^+ .

Из анализа данных, приведенных в табл. 1, вытекает, что компоненты $[Mg^{2+}] [АТФ]$, $[K^+]^2 [АТФ]$, $[Na^+]^2 [АТФ]$ активизируют, а компоненты $[K^+] [АТФ]^2$, $[Na^+] [АТФ]^2$ ингибируют реакцию ферментативной системы. Это, по-видимому, объясняется тем, что для нормальной работы Na^+ , K^+ -АТФазы фермент нуждается в гораздо больших количествах ионов Mg^{2+} , чем АТФ, тогда как АТФ субстрат садится в активном центре фермента, Na^+ и K^+ создает окружающую фермент среду, подходящей ионной силы. Избыточное количество ионов Mg^{2+} , по сравнению с АТФ, употребляется, очевидно, на транслокационной стадии цикла гидролиза АТФ [8]. Из вышесказанного становится ясным ингибирующее действие комплексов $[Mg^{2+}] [АТФ]^2$, $[K^+] [АТФ]^2$, $[Na^+] [АТФ]^2$.

Таким образом, использование многомерного регрессивного анализа для исследования работы Na^+ , K^+ -АТФазной системы позволило получить количественные оценки и рассмотреть весь цикл взаимодействия при одновременных вариациях основных компонентов Na^+ , K^+ -АТФазы, концентрации АТФ, Mg^{2+} , K^+ , Na^+ на скорость ферментативной реакции. Это позволило сформулировать ряд новых, упомянутых выше предположений относительно работы Na^+ , K^+ -АТФазной системы при одновременных действиях активаторов и субстрата ($[Mg^{2+}] [АТФ]$, $[Na^+]^2 [K^+]$, $[K^+]^2$, $[Na^+]$, $[Mg^{2+}]^2 [АТФ]$ и т. д.).

Кроме того, высокая статистическая достоверность оценок вычисленных коэффициентов позволяет использовать полученное уравнение регрессии как интерполяционную формулу для последующих исследований.

ЛИТЕРАТУРА

1. Дрейпер Н., Смит Г. Прикладной регрессионный анализ, «Статистика», М., 1973.
2. Кометиани З. П., Джарнашвили Т. Я., Цакадзе Л. Г. Биохимия, 40, 1039—1046, 1975.
3. Albers R. W. Ann. Rev. Biochem., 36, 727—756, 1967.
4. Dahl J. L., Hokin L. E. Ann. Rev. Biochem., 43, 327—356, 1974.



5. Nakao T., Tashima Y. Biochem. Biophys. Res. Commun., **19**, 765, 1965.
 6. Peter H. W., Wolf H. U. Biochim. Biophys. Acta, **290**, 300—309, 1972.
 7. Skou J. C. Biochim. Biophys. Acta, **23**, 397—398, 1957.
 8. Skou J. C. Bioenergetics, **4**, 1—30, 1973.

Na⁺, K⁺-ატფაზური სისტემის მუშაობის გამოკვლევა მრავალგანზომილებიანი რეგრესიული ანალიზის დახმარებით

ი. გონჯილაშვილი, ი. აბულაშვილი

საქართველოს სსრ მეცნიერებათა აკადემიის ფიზიოლოგიის ინსტიტუტი, თბილისი;
 საქართველოს სსრ ჯანმრთელობის დაცვის სამინისტროს ექსპერიმენტული და კლინიკური ქირურგიის ინსტიტუტი, თბილისი

რ ე ზ ი უ მ ე

ატფ, Mg²⁺, K⁺, Na⁺ კონცენტრაციებსა და ფერმენტული რეაქციის სიჩქარეს შორის დამოკიდებულება აპროქსიმირებულ იქნა მესამე ხარისხის პოლინომის დახმარებით. ამ ურთიერთკავშირის რაოდენობრივი შეფასება საშუალებას იძლევა მოვახდინოთ მთელი რიგი ახალი მოსაზრებების ფორმულირება [Mg²⁺] [ატფ], [Na⁺]² [K⁺], [K⁺]² [Na⁺], [Mg²⁺]² [ატფ] კომბონენტების ერთდროული მოქმედების შესახებ.

THE INVESTIGATION OF Na⁺, K⁺-ATPase SYSTEM BY MEANS OF POLYNOME REGRESSION SYSTEM

J. I. GONJILASHVILI, I. G. ABULASHVILI

I. S. Beritashvili Institute of Physiology, Georgian Academy of Sciences,
 Institute of Experimental and Clinical Surgery, Ministry of Health, Georgian SSR,
 Tbilisi, USSR

S u m m a r y

The dependence between ATP, Mg²⁺, K⁺, Na⁺ concentrations and enzyme reaction rate is approximated with polynome of power 3. Quantitative values of this relation have allowed to formulate a number of suggestions regarding joined activity of components.

УДК 576.8.18:546.57

КРАТКИЕ СООБЩЕНИЯ

АНТИМИКРОБНЫЕ СВОЙСТВА НЕКОТОРЫХ СОЕДИНЕНИЙ МЫШЬЯКА*

З. Ш. Ломтатидзе, Д. М. Анели

Институт ботаники АН ГССР, Тбилиси

Поступила в редакцию 3.5.1977

Изыскание и синтез химических соединений с биоцидными свойствами, используемых против ряда микроорганизмов, участвующих в процессах деградации различных технических материалов (полимеров, красок и т. д.), в настоящее время неуклонно растет. В этом аспекте особое внимание привлекают мышьяковые вещества. В работе поставлена задача выяснить антимикробный спектр трехокси мышьяка (As_2O_3) и диариларсиноэтинилкарбинола ($Ar_2AsC \equiv CHONCH_3$). Синтез и свойства их приводятся в литературе [1]. В качестве тест-микробов были использованы относящие к различным таксономическим группам микроорганизмы, которые выращивались в условиях поверх-

Таблица
Влияние трехокси мышьяка и диариларсиноэтинилкарбинола на рост
различных культур микроорганизмов

Название культур	Контроль	Концентрация As_2O_3 (мг/л)			Концентрация $Ar_2AsC \equiv CHONCH_3$ (мг/л)		
		0,076	0,0076	0,00076	0,076	0,0076	0,00076
		<i>Xanthomonas campestris</i>	5+	4+	4+	5+	—
<i>Bacterium tumefaciens</i>	5+	3+	5+	5+	4+	4+	5+
<i>Bacillus subtilis</i>	5+	1+	5+	5+	1+	3+	5+
<i>Saccharomyces Ludovigii</i>	5+	4+	5+	4+	—	3+	4+
<i>Bacterium anthracoides</i>	5+	3+	4+	4+	1+	4+	5+
<i>Escherichia coli</i>	5+	1+	1+	5+	—	6+	5+
<i>Staphylococcus aureus</i>	5+	1+	4+	4+	—	—	5+
<i>Mycobacterium sp. Б-5</i>	5+	1+	4+	5+	—	—	3+

Примечание: 5+ — очень хороший рост; 4+ — хороший рост; 3+ — средний рост; 2+ — слабый рост; 1+ — очень слабый рост; — — рост отсутствует

* Авторы приносят благодарность сотрудникам химического факультета ТГУ Н. И. Гургенидзе и Р. Д. Гигаури за предоставление образцов мышьякоорганических соединений.



ностного роста на следующих средах: для *Xanthomonas campestris*, *Bacterium tumefaciens*—среда Бургхолтера, *Bacillus subtilis*, *Mycobacterium sp.* Б-5, *Bacterium anthracoides*, *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus* — МПА, для *Saccharomyces Ludvigii* — сусло-агар. Исследуемые на бицидность мышьяковые вещества вносили в среды в концентрациях 0,076, 0,0076, 0,00076 мг/л (пересчет на As).

Результаты исследования приведены в таблице. Из таблицы видно, что наибольшей устойчивостью к трехокиси мышьяка характеризуются следующие тест-микробы: *Xanthomonas campestris*, *Bacterium tumefaciens*, *Saccharomyces Ludvigii* и *Bacterium anthracoides*, а к диариларсиноэтинилкарбинолу—*Bacterium tumefaciens*. Очень слабый рост наблюдается у *Bacillus subtilis* и *Bacterium anthracoides*. При сравнении антимикробных спектров двух исследуемых на бицидность веществ оказалось, что наиболее выраженными бицидными свойствами обладает мышьяко-органическое соединение ($As_2AsC \equiv CHONCH_3$). Испытуемое вещество ингибирующе действует почти на все тест-микроорганизмы, растущие на средах, содержащих $As_2AsC \equiv CHONCH_3$ в концентрациях 0,076 мг/л (пересчет на As), тогда как при таких же концентрациях трехокиси мышьяка рост отмечен (хотя и слабый) у всех тест-микроорганизмов.

Таким образом, трехокись мышьяка и диариларсиноэтинилкарбинол являются бицидными соединениями, однако последний характеризуется более выраженными токсическими действиями.

ЛИТЕРАТУРА

1. Гургенидзе Н. И., Гигаури Р. Д., Чернокальский Б. Д., Чачава Г. Н. ЖОХ, 47, 411—415, 1977.

წოდების დარიშხანობანი ნაერთის ანტიმიკრობული თვისებები

ზ. ლომთაძიძე, ჯ. ანელი

საქართველოს სსრ მეცნიერებათა აკადემიის ბოტანიკის ინსტიტუტი, თბილისი

რეზიუმე

შესწავლილია დარიშხანის სამქანგისა და დიარლარსინოეთინილკარბინოლის ანტიმიკრობული თვისებები. დადგენილია, რომ ამ ნივთიერებებს გააჩნიათ ბიოციდური თვისებები. დიარლარსინოეთინილკარბინოლი უფრო გამოხატული ტოქსიკური მოქმედების უნარით ხასიათდება.

ANTIMICROBIAL PROPERTIES OF SOME ARSENIC COMPOUNDS

Z. Sh. LOMTATIDZE, J. M. ANELI

Institute of Botany, Georgian Academy of Sciences, Tbilisi, USSR

Summary

Antimicrobial properties of arsenic trioxide and diarylarsenicethynylcarbinols have been studied. These compounds appeared to have biocidal properties. Diarylarsenicethynylcarbinols are characterized by more pronounced toxic activity than arsenic trioxide.

Технический редактор Н. А. Онанова
Корректор Г. Н. Дугладзе

Сдано в набор 16.5.1978; Подписано к печати 30.6.1978; Формат
бумаги 70×108^{1/16}; Бумага № 1; Печатных л. 8,40; Уч.-издат. л. 7,02
УЭ 12269 Тираж 1300 Заказ 2107

Цена 70 коп.

გამომცემლობა „მეცნიერება“, თბილისი, 380060, კუტუზოვის ქ., 19
Издательство «Мешниереба», Тбилиси, 380060, ул. Кутузова, 19

საქ. სსრ მეცნ. აკადემიის სტამბა, თბილისი 380060, კუტუზოვის ქ., 19
Типография «Мешниереба», Тбилиси, 380060, ул. Кутузова, 19

К СВЕДЕНИЮ АВТОРОВ

1. В журнале печатаются не опубликованные в других изданиях, завершённые, оригинальные работы экспериментального и теоретического характера по утвержденным редколлегией разделам биологии, обзорные статьи, написанные по заказу редколлегии, а также краткие сообщения и рецензии. Периодически в журнале будет помещаться краткая хроника о проведенных в республике научно-организационных мероприятиях.

2. **Объем рукописи экспериментальных и итоговых работ**, включая таблицы, рисунки, подписи к рисункам, список литературы и резюме на грузинском и английском языках (не более одной страницы машинописи на каждом языке), не должен превышать 12 страниц машинописного текста, напечатанного через 2 интервала и полем см с левой стороны. К рукописи может быть приложено не более 5 рисунков. **Объем обзорной статьи**—24 страницы, **краткого сообщения** со списком литературы и кратким резюме на английском языке (не более 6 строк)—до 4 страниц машинописи. Краткие сообщения можно иллюстрировать 1—2 рисунками.

Резюме на английском и грузинском языках, список литературы, таблицы и подписи к рисункам должны быть представлены на отдельных листах.

3. **Рукопись** (в двух экземплярах) должна быть тщательно проверена, иметь направление учреждения и заключение экспертной комиссии в двух экземплярах. На первой странице слева приводятся индексы статьи (УДК) по таблицам Универсальной десятичной классификации, справа — раздел биологии, затем название статьи, инициалы и фамилии авторов, название учреждения, где выполнена работа, и **краткая аннотация** (не более 0,5 стр.).

Статья должна быть подписана авторами. В конце статьи необходимо указать полностью имя, отчество и фамилии авторов, домашний и служебный адреса, телефоны.

4. Введение должно содержать краткое изложение сути рассматриваемой проблемы и задачи исследования. Описание методики должно быть кратким, но позволяющим читателю самостоятельно оценить соответствие техники и методических приемов, использованных при выполнении работы. Описание результатов и их обсуждение должны ограничиваться рассмотрением и оценкой важнейших фактов, полученных в экспериментах. В конце статьи выводы печатать не следует.

5. К статье и краткому сообщению следует приложить **реферат** на русском языке для реферативного журнала СССР (не более 1000 знаков), оформленный следующим образом: УДК, раздел биологии, инициалы и фамилии авторов, заглавие, название журнала. В конце реферата следует указать количество таблиц, рисунков, библиографические сведения. После реферата слева в квадратных скобках нужно указать научное учреждение, в котором выполнена работа. Реферат должен быть подписан автором.

6. **Иллюстрации** — четкие фотографии на глянцево́й бумаге и рисованные графики на калке или белой чертежной бумаге — следует представлять в двух экземплярах (в напечатанном конверте). Надписи на иллюстрациях должны быть выполнены карандашом. На обороте иллюстрации следует обозначить карандашом ее номер, фамилию автора и сокращенное название статьи, а в случае необходимости отметить верхний и нижний край.

7. Фамилии цитируемых авторов следует давать в транскрипции, соответствующей тексту статьи и в оригинальной — в списке литературы. **Список литературы составляется по алфавиту**. В начале списка необходимо приводить литературу грузинским или русским шрифтом, а затем латинским. После порядкового номера (в тексте статьи он ставится в квадратные скобки) следует давать фамилию и инициалы авторов, название издания, затем: для **периодических** изданий — том, страницы (от и до), год; для **непериодических** — название издательства, место, год издания и страницы.

8. Рукописи, оформленные без соблюдения указанных правил, а также не соответствующие профилю журнала, возвращаются автору. Все рукописи проходят рецензирование.

9. Публикации статей производится в порядке очередности их поступления, за исключением работ, заказанных редакцией.

10. **Корректуры статей** даются авторам для проверки, правки и визирования. Изменения и дополнения в тексте корректур не допускаются, за исключением исправления ошибок и спечаток. Выправленные корректуры возвращаются в редакцию в трехдневный срок. При задержке корректур редакция публикует статьи по первоначальным текстам.

11. Редакция оставляет за собой право сокращать и исправлять тексты статей.

12. Авторы получают бесплатно 12 отдельных оттисков.

Утверждено Президиумом Академии наук ГССР 14.II.1974 г.

6 13/148



Цена 70 коп.

76 204