

784-8
1991



საქართველოს მეცნიერებათა აკადემიის მაცნე
ИЗВЕСТИЯ АКАДЕМИИ НАУК ГРУЗИИ
PROCEEDINGS OF THE ACADEMY OF SCIENCES
OF GEORGIA

ბიოლოგიის
სერია
СЕРИЯ
БИОЛОГИЧЕСКАЯ

1991 N6

თბილისი - თბილი
ТБИЛИСИ - ТОМ
TBILISI VOL.

17

საქართველოს მეცნიერებათა აკადემიის მაცნე
(Сакартвелос მეцნიერებათა академиის мацне)
ИЗВЕСТИЯ АКАДЕМИИ НАУК ГРУЗИИ



ბიოლოგიის სერია СЕРИЯ БИОЛОГИЧЕСКАЯ

ტომი 17, № 6
Том

ქურნალი დაარსებულია 1975 წლის იანვარში
Журнал основан в январе 1975 года
გამოდის წელიწადში 6-ჯერ
Выходит 6 раз в год

თბილისი
ТБИЛИСИ

• „მეცნიერება“
• «МЕЦНИЕРЕБА»

• 1991

სარედაქციო კოლეგია:

მთავარი რედაქტორი ვ. ოკუჯავა

მთავარი რედაქტორის მოადგილე თ. ონიანი

სწავლული მდივანი გ. ბეკაია

ლ. გაბუნია, მ. ზაალიშვილი, გ. თუმანიშვილი, გ. კანდელაკი, გ. კვესიტაძე,

კ. ნადარეიშვილი, ბ. ნანეიშვილი, გ. ნახტურიშვილი, გ. სანაძე, ბ. ყურაშვილი,

თ. ტანიშვილი, ნ. ჯაფარიშვილი, ი. ელიავა

პასუხისმგებელი მდივანი ს. ლაბაძე

РЕДАКЦИОННАЯ КОЛЛЕГИЯ:

Главный редактор В. М. Окуджава

Зам. главного редактора Т. Н. Ониани

Ученый секретарь Г. Л. Бекаия

Л. К. Габуния, Н. А. Джавахишвили, М. М. Заалишвили, Г. В. Канделаки,

Г. И. Квеситაძე, Б. Е. Курашвили, К. Ш. Надарейшвили, Б. Р. Нанейшвили,

Г. Ш. Нахуцришვილი, Г. А. Сანაძე, Г. Д. Тумანიшვილი, Т. Г. Чანიшვილი,

И. Я. Элиава

Ответственный секретарь С. Р. Лабадзе

EDITORIAL BOARD:

Editor-in-Chief V. Okujava

Associate Editor T. Oniani

Editorial Secretary G. Bekaiia

T. Chanishvili, N. Djavakhishvili, L. Gabunia, G. Kandelaki,

G. Kvesitadze, B. Kurashvili, K. Nadareishvili, B. Naneishvili,

G. Nakhutsrishvili, G. Sanadze, G. Tumanishvili, M. Zaalishvili, I. Eliava

Executive Secretary S. Labadze

© Известия АН Грузии

Серия биологическая, 1991

რედაქციის მისამართი:

380060, თბილისი-60, კუტუზოვის ქ. 19,

ტელ. 37-86-78

Адрес редакции:

380060, Тбилиси-60, ул. Кутузова, 19,

тел. 37-86-78

СОДЕРЖАНИЕ — შიგნაბარსი — CONTENTS

A. A. Ungiadze. Поясная извилина и ее нервные связи	365
ა. უნგიადზე. სარტყელის ხეული და მისი ნეირონული კავშირები	
A. Ungiadze. Singulate gyrus and its neuronal pathways	
Г. К. Гогичадзе. Возможный механизм формирования злокачественных новообразований у лиц с трансплантированными аллогенными внутренними органами	378
გ. გოგიჩაძე. ავთვისებიანი სიმსივნეების განვითარების შესაძლო მექანიზმი ალოგენური შინაგანი ორგანოების ტრანსპლანტაციის შემთხვევებში	
G. Gogichadze. Possible mechanism of malignant tumour formation in patients with transplanted allogenic internal organs	
Л. В. Мухелишвили, К. Ц. Кения, М. В. Манджгаладзе, М. М. Зоделава. Уровень дифференцировки неопластических клеток при В-клеточном остром лимфобластном лейкозе	384
ლ. მუსხელიშვილი, კ. ც. კენია, მ. მანჯგალაძე, მ. მ. ზოდელავა. В-უჯრედოვანი მწვევე ლიმფობლასტური ლეიკოზის ნეოპლასტიკური უჯრედო დიფერენცირების დონე	
L. Muskhelishvili, K. Kenia, M. Manjgaladze, M. Zodelava. Differentiation level of B-cell acute lymphoblastic leukemia cells	
Н. М. Глонги, В. И. Элишавили. Сравнительное исследование лакказной и карбоксиметилцеллюлазной (КМЦазной) активностей высших базидиомицетов	389
ნ. ლონტი, ვ. ელისაშვილი. უმაღლესი ბაზიდიომიცეტების ლაკაზური და კმ-ცელულაზური აქტივობის შედარებითი შესწავლა	
N. Glonty, V. Elisashvili. Comparative investigation of laccase and CM-cellulase activities in higher basidiomycetes	
Т. М. Заалишвили, Н. Ш. Джапаридзе, В. Л. Анчабадзе. Изучение роли ядерного матрикса в репарации ДНК нервной клетки	394
თ. ზაალიშვილი, ნ. შ. ჯაფარიძე, ვ. ანჩაბაძე. ბირთვული მატრიქსის როლის შესწავლა ნერვული უჯრედის დნმ-ის რეპარაციაში	
T. Zaalishvili, N. Japaridze, V. Anchabadze. Study of the role of nuclear matrix of nerve cells in DNA	
А. Р. Чхеидзе, В. В. Абрамченко, В. В. Соколовский, Е. В. Костюшов, В. Н. Моисеев, И. М. Бетоева, Л. М. Хелашвили. Генез гипокальциемии при EPH-гестозе	397
ა. ჩხეიძე, ვ. აბრამჩენკო, ვ. სოკოლოვსკი, ე. კოსტიუშოვი, ე. მოისეევი, ი. ბეტოევა, ლ. ხელაშვილი. ჰიპოკალციემიის გენეზი EPH-გესტოზის დროს	
A. Chkheidze, V. Abramchenko, V. Sokolovski, E. Kostiushev, L. Moiseev, J. Betoeva, L. Khelashvili. Hypocalcemia genesis in EPH-gestosis	
Т. Ш. Аденшвили, Г. Г. Симонян, Д. Д. Каландадзе, Г. С. Каличава, Л. М. Краснополяская. Влияние фузикокинина на фотохимическую активность хлоропластов пшеницы	402
თ. ადეიშვილი, გ. სიმონიანი, დ. კალანდაძე, გ. კალიჩავა, ლ. კრანოპოლსკაია. ფუზიკოკინის მოქმედება ხორბლიდან გამოყოფილ ქლოროპლასტების ფოტოქიმიკური აქტივობაზე	
T. Adeishvili, G. Simonyan, D. Kalandadze, G. Kalichava, L. Krasnopol'skaia. The influence of fusicockicine of photochemical activity of wheat chloroplasts	

Л. Г. Какушадзе, Ц. Г. Церетели, М. Ш. Жужунадзе. Содержание пластических пигментов и аскорбиновой кислоты в проростках тритикале ВОСС-1

ლ. კაკუშაძე, ც. წერეთელი, მ. ჯუჯუნაძე. პლასტიდური პიგმენტებისა და ასკორბინმჟავას შემცველობა ტრიტიკალე ვოსე-1 აღმონაცემებში

L. Kakushadze, Ts. Tsereteli, M. Zhuzhunadze. The plastid pigments and ascorbin acid contents in the sprouts of Triticale VOSS-I

Р. Ш. Адамия, Э. А. Матиташвили, Т. Н. Суладзе, Т. Г. Чанишвили, Т. В. Курцхалия. Распространение магнитотактических микроорганизмов в водоемах Грузии

რ. ადამია, ე. მათითაშვილი, თ. სულაძე, თ. ჭანიშვილი, თ. კურცხალია. მაგნეოტოქსიკური მიკროორგანიზმების გავრცელება საქართველოს წყალსაცავებში

R. Adamia, E. Matitashvili, T. Suladze, T. Chanishvili, T. Kurtskhalia. Occurrence of magnetotactic microorganisms in water reservoirs of Georgia

И. И. Георгадзе, Н. В. Топурия, Л. Г. Ткемаладзе, И. Д. Бухникашвили. Возможность и перспективность приготовления интерферона с очищенными ингредиентами

ი. გეორგაძე, ნ. თოფურია, ლ. ტყეშელაძე, ი. ბუხნიკაშვილი. გაწმენდილი ინტერფერენტებით ინტერფერონის მომზადების შესაძლებლობა და პერსპექტიულობა

I. Georgadze, N. Topuria, L. Tkemaladze, I. Bukhnikashvili. Possibility and perspective of interferon production from purified ingredients

Н. И. Махатадзе, Д. М. Гирдаладзе, Ц. Ш. Геликашвили, И. К. Махатадзе. Активность естественных лимфокинактированных клеток киллеров у здоровых лиц и у больных хроническим лимфолейкозом. Взаимосвязь с комплексом HLA

ნ. მახათაძე, დ. გირდალაძე, ც. გელიკაშვილი, ი. მახათაძე. ჯანსაღთა და ქრონიკულ ლიმფოლეიკოზიან ავადმყოფთა ბუნებრივი და ლიმფოკინექტივირებული კილერების აქტივობა. HLA კომპლექსთან ურთიერთკავშირი

N. Makhatadze, D. Girdaladze, Ts. Gelikashvili, I. Makhatadze. Natural killer cells and interleukin - 2-activated killer cells in healthy individuals and leukemic patients. Correlation with HLA complex.

А. Х. Гиоргадзе, В. Б. Парцвания, Т. А. Джебашвили. Клеточно-автоматная модель мембраны нейрона

ა. გიორგაძე, ბ. ფარცვანია, თ. ჯებაშვილი. ნეირონის მემბრანის უჯრედულ-ავტომატური მოდელი

A. Giorgade, V. Partsvania, T. Jebashvili. Cellular automation model of neuron membrane

УДК 612.825 : 612.823.3

ФИЗИОЛОГИЯ ЧЕЛОВЕКА И ЖИВОТНЫХ

ПОЯСНАЯ ИЗВИЛИНА И ЕЕ НЕРВНЫЕ СВЯЗИ

А. А. Унгиадзе

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

Поступила в редакцию 29.01.90

На основе критического анализа имеющейся научной литературы даются подробные сведения относительно структурной организации поясной извилины. Рассмотрение многочисленных морфологических и электрофизиологических исследований позволяет установить возможные нервные связи дигулярной извилины с гиппокампом, ответственные за генез гиппокампальной вызванной активности.

19.7.95
61

Мотивационно-эмоциональное поведение высших позвоночных животных осуществляется при координированной деятельности центральной нервной системы, и возникновение той или иной эмоциональной реакции связано с активацией определенных образований мозга. Интерес к лимбическим структурам мозга возник еще в 1937 г., когда Пейпецом [76] была предложена умозрительная теория о субстрате эмоций, согласно которой гипоталамус, передние таламические ядра, поясная извилина, гиппокамп и их взаимосвязи составляют гармонически работающий механизм, лежащий в основе эмоций и участвующий в их выражении. Почти одновременно с этим психологом Генрихом Клювером совместно с нейрохирургом Паулем Бюси Американскому нейрофизиологическому обществу был показан фильм, демонстрирующий данные повреждения риненцефалических структур и их значение в эмоциональном поведении. Их наблюдения после двухсторонней темпоральной лоботомии указывали на тяжелые нарушения в поведении приматов, которые характеризовались «психической слепотой» с сопутствующими явлениями повышенной сексуальности, потерей непосредственного запоминания, изменением пищевых навыков, позднее ставшими известными под названием синдрома Клювера-Бюси. В дальнейшем, в связи с применением более со-

временных методов исследования, возрос интерес к изучению отдельных лимбических структур в организации сложных форм деятельности головного мозга, таких как эмоциональные реакции и процессы памяти.

Изучению функционального взаимоотношения и связей структур лимбического круга, в частности поясной извилины и гиппокама, придается особое внимание, так как клинические наблюдения над больными, неподдающимися фармакологическому лечению после дигулоэктомии и гиппокампоэктомии [9, 12, 61 и др.], а также опыты на животных [4—6, 21, 66, 69, 71 и др.] указывают на их важную роль в регуляции соматических и вегетативных ответов эмоционального поведения и процессов памяти. Выделена особая лимбическая форма психомоторной эпилепсии (limbic epilepsy), сопровождающаяся нарушениями висцеральных функций [15, 60 и др.]. При травматических энцефалитах, которым сопутствует развитие психопатологических эффектов, обнаруживалось поражение лимбической области и ее нейрональных связей [70]. По клиническим данным удаление поясной извилины приводит к понижению чувства страха, у психических больных с навязчивыми идеями о самоубийстве — к снятию этих идей, а у больных с повышенной психомоторной деятельностью — к успокоиванию [80]. Известно участие лимбической обла-

საქართველოს
0 6 0 8 5 0 0 0
ბიბლიოთეკა



сти в механизмах возникновения морфинизма и никотинизма [58, 91 и др.]. Особенно подвержена она сосудистым травмам [70], которые часты в космических полетах и связаны с ускорением и продолжительными перегрузками.

В лимбической системе гиппокамп рассматривается как начальное звено, воспринимающее импульсы, которые активируют эмоциогенные структуры мозга. Поясная извилина же признана «рецептивной областью эмоциональных переживаний», участвующей в «целенаправленной психической деятельности и памяти человека»; «эмоциональные процессы», распространяющиеся из этого образования на другие структуры мозга, придают поведенческим реакциям и психической деятельности эмоциональную окраску [9, 41, 76 и др.]. Это высший неокортикальный отдел лимбической системы, конечное звено информации, формирующихся в результате последовательного включения структур

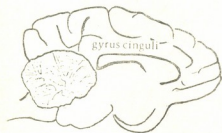


Рис. 1. Внутренняя поверхность полушария мозга кошки

этой системы. Имеющиеся данные указывают на то, что в лимбической коре происходит завершающий синтез лимбической и неокортикальной информации [30]. Этого положения в иерархии лимбических структур она достигла благодаря сложности своей архитектоники, клеточному составу и обширным связям с неокортикальными и подкорковыми образованиями мозга.

К поясной извилине (*gyrus cinguli*) Брока¹ относил непрерывную извилину, лежащую над мозолистым телом и огибающую в виде полукольца вентральную часть медиальной поверхности полушария, назвав ее боль-

шой лимбической долей (*grand lobe limbique*)—рис. 1. Извилина имеет несколько синонимов. Позднее она стала известна как поясная извилина (*cingular gyrus* по Brodmann K., 1929)¹, лимбическая извилина (*limbic gyrus* по Economo C., 1929)¹ и сводчатая извилина (*gyrus fornicatus* по Wernicke C., 1900¹; Зернову Д., 1939¹; BNA², 1895; J IV. A³, 1935 и др.).

Согласно международной Парижской анатомической номенклатуре сводчатая извилина состоит из трех отделов: *gyrus cinguli*, *isthmus giri cinguli*, *gyrus parahippocampalis* (последняя соответствует *gyrus hippocampalis* по B.N.A.). По цитоархитектонической карте мозга человека, составленной в Институте мозга АМН СССР (1955), *gyrus cinguli* относится к лимбической области.

Фронтальной границей поясной извилины у кошек служит генуальная извилина (*g. genualis*); её перелпняя часть расположена у клюва *Rostrum* мозолистого тела; дорсальной границей служит спленальная борозда (*g. splenialis*); вентральной—борозда мозолистого тела (*S. corporis callosi*); каудальной—расположенная у утолщения мозолистого тела ретроспленальная борозда (*S. retrosplenialis*) [2].

Согласно ранним цитоархитектоническим исследованиям, кора поясной извилины признана «промежуточной» между новой и старой корой. Исследованием лимбической области у разных представителей млекопитающих (копытные, хищные) показано, что поясная извилина обнаруживает структурные признаки «переходной коры» от аллокортекса (*tenia tecta*) к более сложному изокортексу. Поясная извилина как реле между новой корой и подкорковыми образованиями мозга, как многоступенчатый переход от старой коры к новой, рассматривалась многими авторами [8, 39 и др.]. Фли-

¹ Цитировано по [17].

² В. Н. А.—Baseler Nomina Anatomica—Базельская анатомическая номенклатура, 1895.

³ J. N. A.—Jenear Nomina Anatomica—Йенская анатомическая номенклатура, 1935.



монов И. Н. [37] относил лимбическую область по строению и генезу к формации межзубчатого характера, но сильно модифицированной, в сравнении с периархикортексом, рассматривал ее как переход от архикортекса к «типическим полям неокортекса». Поля 33 и 26 (по Бродману) были отнесены к старой коре — эрхикортексу, а остальные поля объединены в единую лимбическую область (regio limbica), отнесенную к новой коре.

Анализ цитоархитектоники и нейронного строения показал их усложнение в лимбической коре, прослеживающееся по направлению к соседним областям неокортекса, а также в филогенетическом ряду млекопитающих. Наличие одного морфологического процесса в коре лимбической области и остальных областях неокортекса, сложный клеточный состав лимбической области и шестислойный принцип организации [17, 51, 86 и др.] указывают на причастность лимбической области к неокортексу. Некоторое отставание в темпах развития, наблюдаемое в лимбической области (в сравнении с неокортексом) позволило отнести ее по характеру структуры к краевой зоне неокортекса [7]. Поляков Г. И. [27] обозначил лимбическую кору как «неполноразвитый неокортекс».

Имеются данные, рассматривающие цингулярную кору как компонент неокортикальный, а не лимбического круга. По их мнению, лимбический круг, по-видимому, обходит цингулярную кору, замыкаясь через вторичный вход [54]. Исключается возможность участия передней лимбической коры в основном лимбическом цикле; она представляется особой зоной, связывающей амигдалу с лобной корой [13, 14]. Высказывается мнение о необходимости преобразования, реформирования «круга Пейпеца» с исключением из него цингулярной коры [54, 87].

По характеру цитоархитектоники Бец В. А. в 1881 году один из первых выделил лимбическую область из состава плаща, тем самым положив начало исследованиям этой области [7]. Цингулярная кора была обнаружена уже у амфибий и рептилий. Закладка ее обособляется из целостной неокортикальной пластинки у человека во

вторую половину раннего периода онтогенеза (12—26 недель) в виде лукольца, окружающего мозолистое тело [40].

Цитоархитектоническая карта поясной извилины указывает на ее неоднородность. Было отмечено отсутствие зернистого слоя в переднем отделе лимбической области (аналогично моторной коре), которая обозначена как агранулярная. Задний отдел лимбической области, в отличие от нее, характеризовался хорошо развитым внутренним зернистым слоем (IV) и крупными клетками в глубине III слоя. Это послужило поводом для деления поясной извилины на два принципиальных и существенных подразделения. Они представляют популяции нейронов, варьирующих по своим цитоархитектоническим характеристикам и нервным связям с другими образованиями мозга [51, 86 и др.]. В свою очередь эти отделы подразделяются в дорсо-вентральном направлении на дополнительные цитоархитектонические поля. Передняя (агранулярная) лимбическая область включает поле 24, инфраламбическое — 25 и 32 поля. Архитектоника поля 24 указывает на ее постоянство от мыши до макаки и человека. В задней лимбической коре выделены цингулярное (поле 23) и ретроспленальное гранулярное поле 29. Поле 29, отвечающее на стимуляцию наружного коленчатого и заднелатерального ядер коротколатентными ответами, указывающими на моносинаптическую связей этих областей, относят к зрительной зоне лимбической коры [19]. У некоторых животных в последнем выделяют также поле 26 и 30 [82, 86 и др.] (рис. 2).

Бродман [50], исходя из онтогенетических представлений, дал анализ лимбической формации во всем ряду млекопитающих. Была допущена широкая гомология полей хищных с полями мозга приматов [17]. У лисеэнцефалов, к которым относятся летучая мышь, ёж и кролик, лимбическая область обособлена на территории новой коры только по микроскопическим, архитектурным признакам и изменению коры в ширину. У рукокрылых отсутствует отчетливое деление новой коры на области и поля, однако лимбическая область может быть отграничена от остальной области неокортекса. Деление ее на

подобласти и пояс не выражено [22]. Лимбическая область насекомыхных (ёж) уже отчетливо делится на переднюю и заднюю подобласти [17 и др.]. В задней же лимбической подобласти мозга кролика имеет место расщепление наружного комплекса клеток, в отличие от задней подобласти ежа, где наблюдается слитное строение. У грызунов отмечается наличие слоев II+III, IV и относительно широкий и густой V слой. Эта область по-разному развита у всех млекопитающих, но у всех в развитии можно дифференцировать два поля. Ретроспленальная область, хорошо развитая у кошек, явно уменьшается у приматов, а цингулярная область, обладающая у грызунов ретроспленальными свойствами, у кошек и приматов проявляет индивидуальные тектонические, конструктивные характеристики; она является почти единственным компонентом области [86]. У человека в дополнение к полю 29 выделено поле 31.

Еще большее усложнение строения лимбической коры в сравнении с грызунами наблюдается у хищных: увеличивается количество полей и прогрессирует цитоархитектоническая дифференцировка. Лимбическая область собаки отчетливо подразделяется на ряд цитоархитектонических полей, располагающихся в виде полуконцентрических поясов дорсально от мозолистого тела, а кора достигает полного расслоения. Задняя область включает лимбическое поле, два поля в борозде мозолистого тела (наружное и внутреннее интрасулькальное) и дифференцирована на 6 слоев. Сложность нейронной структуры достигает более высокой степени — V слой делится уже на два подслоя. Особенно выраженные цитоархитектонические изменения отмечаются в восходящем ряду субприматов в V слое лимбической области. Эти изменения рассматриваются как предшествовавшие конечному разделению слоя на два подслоя, что типично для приматов [17].

В сравнительноанатомическом ряду полуобезьяны (лемуры) по биологической организации и основным признакам строения стоят между насекомоядными и обезьянами, обладая признаками этих двух отрядов. Сохранены некоторые особенности расслоения этой области (как у насеко-

мойных), имеет место еще нерасчлененное строение II+III, IV и V слоев. Лимбическая область лемуров подразделяется на большое количество формаций, усилена дифференцировка в направлении от мозолистого тела к пограничным с лимбической корой областям неокортекса [17]. У обезьян (игрунка) на границе с окружающей ее областями коры обособлены пограничные лимбические поля, отсутствующие у полуобезьян [42]. Наблюдается деление передней и задней подобластей на поля, отчетливо выделены слои. Дифференцировка лимбической области у гиббонов еще выше с приближением к соседним областям неокортекса.

В процессе развития признаки усложнения нейронной структуры в лимбических структурах проявляются позднее, чем в других неокортикальных областях. В лимбической области ежа и кролика нейроны характеризуются круглой и овальной формой, в соседних неокортикальных областях тела многих нейронов приобретают отчетливую пирамидную форму, что обусловлено смещением части боковых дендритов этих нейронов к основанию тела [17]. Уже у субприматов наблюдается закономерности развития, состоящая в отставании архитектурной дифференцировки передних лимбических формаций от задних. Это различие выявляется и в структуре нейронов, имеющих в задней лимбической подобласти большую сложность строения, чем в передней. Передняя лимбическая подобласть характеризуется менее разнообразными формами нейронов, более редким их ветвлением и менее отчетливым смещением боковых отростков к основанию тела нейрона в сравнении с задней лимбической подобластью [17].

Структура gyrus fornicatus у человека была изучена еще в 1895 г.. В онтогенезе у человека лимбическая область обособляется из внутреннего краевого участка целостноразвивающейся корковой пластинки, примыкающей к аммональной закладке. В пренатальном периоде онтогенеза закладка лимбической области подразделяется по особенностям дифференцировки на три полуконцентрических пояса, окружающих полукольцом

спинку мозолистого тела, а также выделяются передний и задний отделы. У человека лимбическая область достигает еще более высокой дифференцировки. Основными возрастными этапами в постнатальном онтогенезе принято считать 1 год, когда отмечается скачок в развитии, и 4 года, когда наблюдается приближение архитектурного развития к дифференцировке области у взрослого [38]. Об усложнении структуры лимбической области указывает рост многообразия нейронов, развитие пирамидного нейрона [43, 51], усложнение строения звездчатых нейронов с коротким аксоном [26]. В задней подобласти большинство полей приближается к уровню дифференцировки других областей неокортекса и отставания не резки. Нет сомнения, что цингулярная кора, значение которой достигает максимума у человека, является прогрессивно развивающимся, в количественном и качественном отношениях, важным ассоциативным и интегративным образованием в ряду млекопитающих.

В начале в лимбической области было выделено 4 слоя, которые в дальнейшем были подтверждены и дополнены данными, полученными по методу Ниссля. Описаны следующие слои: 1) молекулярный, характеризующийся высокой плотностью; 2) слой веретенообразных и мелких пирамидных клеток; 3) плексиморфный слой, содержащий незначительное количество клеток; 4) слой больших и гигантских веретенообразных клеток; 5) слой густых средних пирамид; 6) слой белого вещества и полиморфных клеток [51].

Внутри лимбической области ее дробные формации обслуживаются короткими ассоциативными связями. Методом терминальной дегенерации они выявлены между передней и задней подобластями [28, 56, 75, 97]. Описаны реципрокные связи между передним и задним отделами. Из слоя V роstralной агранулярной области прослежены волокна к V слою задней поясной извилины и ретроспленальной коре, тогда как II и III слои задней поясной извилины и V слой ретроспленальной коры проецируют роstrально к передней и прецентральной агранулярной коре [47]. Поля 24 и 25 посылают афферентные волокна к полю 29, зрительной (поле 18) и

моторной коре; в свою очередь эти поля получают афферентацию из поля 29 [98]. Электрофизиологическими исследованиями показано возникновение вызванных потенциалов по всей длине поясной извилины при стимуляции ее переднего отдела [32, 101]. Выявлены связи лимбической области и с другими областями неокортекса; длинные ассоциативные волокна прослежены ко многим корковым и подкорковым образованиям мозга (полям 5, 17, 18, 2, 3, 30) [3, 17, 97 и др.].

Вопрос о наличии обширных нервных связей поясной извилины с таким подкорковым образованием, как гиппокамп не является дискуссионным. Однако исток и ходология цингулярных проекций, а также взаимоотношения этих двух структур мозга четко не определены. До сих пор спорен вопрос о нервных связях цингулярной коры и гиппокампа. Как осуществляется проведение импульсов возбуждения от поясной извилины к дорсальному и вентральному гиппокампу?

Ранними работами Кахалы [51] были установлены три основные системы афферентных волокон, идущих к гиппокампу, из: 1) энторинальной области; 2) от лимбической извилины через цингулярную связку и 3) через нервы Lancisi. Анализ этих данных показал дифференцированное распространение афферентных волокон в три основных сегмента аммонова рога (рис. 3).

Первые сведения об афферентных связях лимбической области относятся к концу XIX века. Были описаны волокна из поясной извилины, прободящие мозолистое тело и в виде компактного пучка достигающие ядер прозрачной перегородки (Meunert H., 1872¹; Kölliker A., 1983¹; Жуковский М. Н., 1897¹). Согласно имеющимся данным эфферентные связи лимбической области кошки осуществляются тремя проекционными системами: 1) волокнами капсулярного пучка, спускающимися по ходу внутренней капсулы к хвостатому ядру, ядрам зрительного бугра, скорлупе, зритель-

¹ Цитировано по [17].

ному тракту и др.; 2) форникальным лимбико-гиппокампальным пучком (*fasciculus limbico-hippocampalis*), начинающимся в заднем и среднем отделах поясной извилины (он прободает мозолистое тело у средней линии, переходит через ножку свода и фимбрию и с ее волокнами достигает гиппокампального поля Н₂); 3) фор-

поталамусом. В сравнении с передней лимбической подобластью, задняя сильно развита и лимбико-гиппокампальный пучок [17, 37, 83].

При изучении фронтальных срезов мозга животных (мыши, морские свинки, кролики) выше мозолистого тела, непосредственно ниже и за пределами межполушарного серого вещества была обнаружена большая лен-

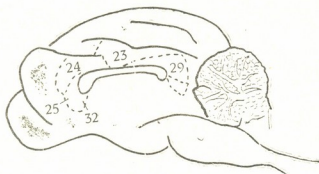


Рис. 2. Диаграмма распределения полей в поясной извилине

никальным лимбико-гипоталамическим пучком, идущим из передней лимбической подобласти. (он пересекает мозолистое тело, далее через прозрачную перегородку направляется в ножку свода и достигает наружного, супраоптического и перивентрикулярно-

та белого вещества. Указывалось на неотделимость форникальной извилины и аммонова рога, она как бы находит продолжение в нем (Edinger H., 1900)¹. Кахалем [51] эта лента была описана в 1890 г. как пучок волокон, идущий от клеток цингулярной коры и частично заканчивающийся в аммоновом роге. (Kölliker A., 1893)¹ описал поясную связку как длинный стреловидный пучок, дающий перфорирующие волокна, предназначенные для форникса. Эта связка проходит над мозолистым телом, под лимбической корой и является ее составной частью. Основной структурной ролью и вероятной функцией цингулярного пучка было объединение различных областей форникальной извилины с соседними и отдаленными образованиями мозга. По Бивору (Beever C., 1891)¹ поясная связка у человека представлена комплексной структурой, составленной проводниками различного происхождения. Выявлены три группы волокон (передняя, горизонтальная и задняя). Из них задний сегмент располагается внутри гиппокампальной извилины. Многие авторы склонны

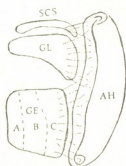


Рис. 3. Диаграмма, показывающая распространение основных систем афферентных волокон к гиппокампу (GE — энторинальная кора; GL — лимбическая извилина; SCS — нервы Lancisi)

го ядер гипоталамуса). Часть волокон оканчивается в ядрах перегородки и, в свою очередь, имеет эфферентные связи с аммоновым рогом, эпи- и ги-

¹ Цитировано по [51].



считать связку многопроводниковым путем, составленным короткими волокнами. Кахаль [51] в своих исследованиях на мелких млекопитающих утверждал, что в дополнение к коротким волокнам, поясная связка содержит длинные нервные волокна, охватывающие всю ее длину или почти всю, и что она заканчивается древовидным разветвлением внутри субикулула и аммонова рога. Позднее более современными методами исследования было подтверждено наличие нервных проекций от лимбической коры, прослеживающихся до субикулула, пресубикулула и самого гиппокампа. В заднем и среднем отделах поясной извилины описан пучок волокон, прорывающий мозолистое тело у средней линии, переходящий в фимбрию и с ее волокнами, достигающий аммонова рога [44, 46, 59].

Более поздние исследования внесли сомнения в наличие прямых нервных проекций к гиппокаму. При разрушении цингулярной извилины дегенерированные волокна прослеживались в энторинальной коре, пара- и пресубикулуле; в гиппокампе и зубчатой фасции они не были найдены [29, 56]. Однако ряд электрофизиологических работ указывает на существование между этими структурами мозга прямых коротких нервных связей. Возникновение гиппокампального ответа было продемонстрировано на всех уровнях послыстного отведения при стимуляции поясной извилины кроликов. Показано, что афферентные проекции получают все слои гиппокампа на их апикальные и базальные дендриты [53]. Гринном и Эйдн [62] описаны коротколатентные цингулярные ответы на раздражение гиппокампа и гиппокампальные вызванные потенциалы на стимуляцию цингулярной связки и серого вещества поясной извилины. При изучении топки восходящих проекций дорсального гиппокампа (поле Ca_1) наблюдали ответы лимбической области, характеризующиеся короткой латентностью ($1,5 \pm 0,23$ мс) первого компонента вызванного потенциала и амплитудой $100 \pm 40,6$ мкВ [11]. Изучение взаимоотношений поясной извилины и гиппокампа на кошках показало участие в генезе вызванных ответов этих образований, помимо известных мультисинаптических проекций, коротких двухсторонних

моносинаптических нервных связей, существующих между цингулярной корой (поле 24) и дорсальным гиппокампом. На это указывают: низкий порог вызова ответа, высокая его амплитуда и стабильность при одиночных, ритмических и парных (с различным межимпульсным интервалом) раздражениях, а также скрытый период, равный $1,5-2$ мс [33-35].

Поясной пучок признан если не единственным, то, по крайней мере, одним из значительных проводников, оказывающих влияние на активность гиппокампальной формации [102]. Согласно имеющимся данным, поясная связка проектируется к гиппокаму через ряд коротколатентных переключений или должен существовать хотя бы один синапс в энторинальной коре, пресубикулуле или субикулуле [56, 97, 102].

Основным кортикальным источником афферентов гиппокампа является энторинальная область, которая через ряд последовательных, весьма сложно организованных звеньев (пресубикулул, поле 27; парасубикулул, поле 49; субикулул) переходит в собственно гиппокамп [51, 93, 95, 97]. Так же как и цингулярная кора, она относится к лимбической коре. Отмечается сложность организации и высокий уровень функциональной дифференциации предгиппокампального кортикального реле, а также сложный характер выходящих на гиппокамп сигналов [14, 27].

Энторинальная кора получает проекции из всех окружающих ее областей: из темпоральной и фронтальной кортикальных областей, преинальной коры, преамигдаллярного и перириформного комплекса, субикулула и пресубикулула [67, 95, 96]. Являясь местом конвергенции сенсорной информации, передаваемой в дальнейшем гиппокаму [99], она признана генератором гиппокампальной электрической активности. Не вызывает сомнения возможность прямого запуска гиппокампальных пирамид поля CA_1 , генерация ритмической активности и пикового потенциала латентностью в $4-5$ мс через кортикальный вход у кошек [81, 72].

Имеющиеся данные об источниках афферентных волокон к гиппокаму

базируются на классических наблюдениях Кахала и Лоренте де Но [51, 68]. По этим данным три нервных пути, идущие от энторинальной области, осуществляют связь с гиппокампальной формацией. Это — прямой гомолатеральный темпоро-аммоновый или «перфорантный тракт», восходящий из латерального энторинального поля. Пучки его волокон, перфорируя ткань субикулума и пресубикулума, пересекают облитерированную щель между гиппокампом и зубчатой фассцией и заканчиваются в str. lacunosum-moleculare поля CA₁. Второй путь — темпоро-альвеарный (alvear tract) и третий — большой перекрещенный темпоро-аммоновый путь, идущий преимущественно от медиальной энторинальной коры и переходящий на противоположную сторону. Его

трам (альвеарному и перфорантному) — рис. 4.

Дальнейшими работами показано, что основной перфорантный путь идет от медиальной энторинальной коры. Составляющие его волокна, заканчивающиеся в str. lacunosum-moleculare, редут в направлении от CA₁ к полю CA₃ и, вероятно, не достигают поля CA₄ [82, 90]. К перфорантному пути примыкает путь, идущий из латеральной области, заканчивающийся на апикальных дендритах пирамидных клеток гиппокампа полей CA₁ и CA₃ и гранулярных клетках зубчатой фассции. Преимущественным местом окончания афферентных волокон признан верхний отдел гиппокампа [64, 103].

На основании изучения препаратов по Гольджи сделано заключение о существовании point-to-point проекций каждого из энторинальных путей непосредственно к примыкающим частям гиппокампальной формации [90].

Перерезка энторинального афферентного входа приводила к четким изменениям как в частотных характеристиках, так и в корреляционной функции фоновой электрической активности гиппокампа: наблюдалось усиление активности в диапазоне 4 Гц и снижение активности низких частот 1—2 Гц [24]. Имеются данные, согласно которым разрушение энторинальной коры давало слабую терминальную дегенерацию в str. lacunosum-moleculare [64]; в поле CA₁ дегенерировали лишь синапсы en passage [94]. Отсечением кортикального входа не наблюдали существенных изменений в спонтанной электрической активности и смене типа реакций [40]. Полное же билатеральное отсечение энторинального входа не влияло на уровень и общую структуру спонтанной активности нейронов гиппокампа, отмечалось появление большого числа (38—43% при норме 10—12%) нейронов с ритмическим тета-залпом, активность возрастания уровня реактивности, конвергенции и исчезновение способности к угашению [10]. Сопоставление латентностей вызванных потенциалов различных структур мозга при их электрической стимуляции, аппликации стрихнином и действию хинолиновой кислоты, а также при отключении возможных посредников в проведении возбуждения от цингулярной коры к гиппокаму, показало

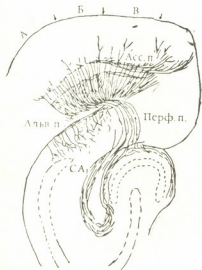


Рис. 4. Диаграмма распространения нервных путей из энторинальной коры

мощные проекции идут к зубчатой фассции и к полю CA₁ гиппокампа [64, 103]. Путь к полю CA₃ менее обширен и не достигает поля CA₄.

Опираясь на полученные данные, Лоренте де Но [68] подразделил энторинальную кору на три поля: область, дающую начало волокнам перфорантного тракта (А); область, являющуюся источником восходящих волокон только альвеарного пути — (В) и область (Б), дающую начало обонм пу-



первостепенное значение в генезе вентрогиппокампальных ответов на раздражение задней поясной извилины — основного афферентного энторинального входа [36]. В опытах на «изолированном гиппокампе» с перерезкой септального и перфорирующего путей выявлен дополнительный кортикальный источник сенсорной информации для поля CA_1 . Этим источником признан цингулярный задний отдел, а также, возможно, прямые волокна от неокортекса [14]. Путь этот спорен [29, 56], хотя и получены подтверждения его существования [48].

Согласно ряду исследований, проведение импульсов возбуждения через поясную связку может не быть решающим или вовсе отсутствует [100]. Показана либо ограниченная проекция от лимбической коры к пресубикулуму [56], либо их отсутствие к гиппокампальной формации [29]. Мнение о проекции лимбической коры через серию коротколатентных переключений нуждается в проверке [30]. Эффекты в гиппокампе могут возникать от импульсов, обходящих поясную связку, через форникально-гиппокампальную связь [55, 63]. Кроме того, полное отключение энторинального входа в гиппокамп не препятствовало возникновению медленных волн ответа гиппокампа на стимулы, вызывающие настороженность животного [45]. Предполагается участие форникально-гиппокампальной системы, которая рассматривается как вероятный дубликат этого пути.

Электрофизиологическими методами показано участие короткого, прямого моносинаптического нейронного пути в генезе дорсогиппокампального вызванного потенциала на стимуляцию поля 24 [35]. Имеются данные, указывающие, что билатеральное повреждение энторинальной коры и медиальной перегородки не приводит к изменению медленной ритмической активности в поле CA_1 дорсального гиппокампа и спонтанных ЭЭГ спайков. Сделан вывод, что ни вход энторинальной коры, ни вход медиального септума не являются необходимыми для генерации спонтанных ЭЭГ спайков [92], что, помимо, возможной связи через энторинальную кору, может существовать более прямой путь — через перфорирующие волокна к гиппокампу [62].

Не исключено, что кроме волокон, направляющихся обычным путем по системе свода (т. е. форникальным), существует и другая система волокон, идущая минуя свод, — экстрафорникальные пути. Н. Ипекчян [18] обнаружены нервные пути, объединяющие гиппокамп и новую кору, через перемычку между гиппокампом и окружающей его корой в области бокового желудочка. Эти пути, по мнению автора, должны иметь непосредственное отношение к функции памяти, особенно эмоциональной. Морфологическими работами показано, что передняя поясная извилина посылает эфферентные волокна в дорсальный гиппокамп. Причем, повреждение переднего отдела поясной извилины вызывает появление дегенерированных волокон в подлежащем белом веществе эктосильвиевой извилины, прилегающей к гиппокампу. Это позволяет предположить попадание прямых волокон поясной извилины в гиппокамп посредством вышеупомянутых перемычек [20].

Поясная извилина является проекционной зоной лимбических ядер таламуса, посылающих к ней свои аксоны в составе поясной связки и, в свою очередь, получающих возвратные эфференты из этой области. Согласно имеющимся данным поясная связка не является ни эфферентным, ни ассоциативным трактом лимбической коры, а составлена в основном из афферентных волокон таламуса. Поясная извилина обладает прямыми нервными связями с передней группой таламических ядер. Их аксоны, после выхода через ножку таламуса, в виде пучков передней радиации внутренней капсулы, проходят стриатум, пронзают мозолистое тело и входят в цингулярную кору [56, 68 и др.]. Наиболее длинные волокна огибают мозолистое тело спереди. Эти таламокортикальные пути и составляют основную массу волокон, идущих в составе поясной связки [57]. Основные афферентные пути от передней группы ядер таламуса, идущие к цингулярной коре, дифференцированно проецируются в различные ее поля. Сенсорное обеспечение лимбической коры осуществляется прямыми путями от сенсорных таламических реле, и топографическая организация зон,



посылающих афференты в передний и задний отделы лимбической коры, в таламусе различна [1].

Известна роль лимбических ядер таламуса как реле, исполняющего функцию фильтра в кругу Пейпеца и поддерживающего циркуляцию гиппокампальной импульсации. К релейному типу отнесена большая группа ядер, включающая антеромедиальное (п. АМ), антеровентральное (п. АУ) и антеродорсальное (п. АД) ядра. Отмечена строгая зависимость п. АУ от гиппокампального входа [78 и др.]. Передняя группа ядер обнаруживает дифференцированное развитие. п. АУ — наиболее крупное и прогрессивно развивающееся в филогенезе ядро (его объем утрачивается от орангутанга до человека) [85]. Оно содержит особые релейные клетки с дендритами, идущими не ветвясь от тела клетки и образующими на конце расходящуюся из одной точки кисточку. Такие клетки способны к эффективной и быстрой суммации возбуждения и его подавления [23, 89]. Клетки этого ядра получают переключение в мамилло-таламическом тракте и прямые дифференцированные связи от поля СА₁ гиппокампа, а также проекции от задней цингулярной коры. п. АУ проецируется преимущественно на заднюю цингулярную кору [52, 86, 88]. К передней лимбической области проекции не были обнаружены или они очень редки. Электрофизиологическими работами показано участие п. АУ в генезе заднецигулярных вызванных ответов на стимуляцию дорсального гиппокампа [33]. Согласно данным ряда авторов, АМ проецируется на переднюю лимбическую область и принимает участие в генезе ее ответов на стимуляцию гиппокампа [32, 56, 73, 84, 86]. п. АМ и п. АД претерпевают в своем развитии регрессию [74, 86 и др.]. Так, у человека п. АД очень мало и диффузно. Особенности эволюции лимбических ядер таламуса отражаются и в развитии их проекционных зон в лимбической коре: ретроспленальная область (проекция п. АД), высоко развитая у кро-

лика и кошки, редуцирована у грызунов, между тем как заднецигулярная кора (поле 23 — проекция п. АУ) обладает очень высокой дифференцировкой в сравнении с ретроспленальной (поле 29) и передней лимбической корой (поле 24). В свою очередь лимбическая кора посылает афферентные связи к переднему таламическому комплексу. Топография нервных связей несколько иная чем афферентных проекций таламуса. Идущие от лимбической коры пути проходят внутреннюю капсулу и входят через боковую ножку таламуса. Согласно данным [16, 56, 86, 88 и др.] существует дифференцированная топически организованная дробная проекция различных полей лимбической области к ядрам передней группы таламуса: передняя поясная извилина проецирует на п. АМ, на медиодорсальное и вентромедиальное ядра. Что касается ретроспленальной ганглионарной области — она является источником волокон к п. АУ. Не были обнаружены возвратные проекции к п. АД. п. АУ и п. АД получают волокна от задней лимбической области через посткомиссуральный форникс (волокна, проходящие через мозолистое тело) и внутреннюю капсулу [49, 65].

Безоговорочно доказано наличие и значение мощного пути к гиппокампу — энторинального входа. Однако нельзя игнорировать роль передних лимбических ядер таламуса в функциональной взаимодейственности лимбической коры и гиппокампа. Существование же двухсторонних дифференцированных нервных связей между отдельными звеньями лимбической системы (в данном случае между поясной извилиной и гиппокампом) являются необходимыми не только для их совместного функционирования и деятельности отдельных образований, входящих в эту систему, но и для их структурного существования. Поэтому не исключено, и вполне реально, существование и прямых коротких нервных проекций между поясной извилиной и гиппокампом.

1. Акопян Э. В., Загорюлько Т. М. Журн. высш. нервн. деят., **24**, 3, 396—403, 1988.
2. Айрапетянц Э. Ш., Сотниченко Т. С. Лимбика, «Наука», Л., 1967.
3. Ахметелашвили О., Исселანი Т. К. Сообщения АН ГССР, **72**, 160—163, 1973.
4. Бакваджян О. Г., Еганова В. С., Каспарова С. Р. Физиол. ж. СССР, **73**, 3, 373—383, 1987.
5. Беллер Н. Н. Висцеральное поле лимбической коры, «Наука», Л., 1977.
6. Бериташвили И. С. Гагрские беседы, **5**, «Наука», М., 1968, 11—15.
7. Бец В. А. Анатомические и гистологические исследования, М., 1950.
8. Блишков С. М. Руководство по неврологии, **1**, кн. 2, Медгиз, М., 1957.
9. Богданов А. С., Кирпиченко А. А. Журн. невропатол. и психiatr., **90**, 3, 110—113, 1990.
10. Бражник Е. С., Виноградова О. С. Журн. высш. нервн. деят., **26**, 6, 1281—1290, 1976.
11. Валюх Т. П., Соллертинская Т. Н. Физиол. ж. СССР, **71**, 4, 428—438, 1985.
12. Вейн А. М., Соловьева А. Д. Лимбико-ретикулярный комплекс и вегетативная регуляция, «Наука», М., 1973, 9—266.
13. Виноградова О. С. Гиппокамп и память, «Наука», М., 1975.
14. Виноградова О. С. Обработка информации нейронами гиппокампа и связанных с ним структур, Докт. дисс., М., 1982.
15. Гращенков Н. И., Вейн А. М., Колосова О. А. Проблемы динамичной локализации функции мозга, М., 1968, 302—308.
16. Замбржидский И. А. Арх. анат., **1**, 20—28, 1966.
17. Замбржидский И. А. Лимбическая область большого мозга, «Медицина», М., 1972.
18. Инекчян Н. М. Об эфферентных проекциях гиппокампа, Автореф. канд. дисс. Ереван, 1970.
19. Карамян А. И., Загорюлько Т. М., Билян Р. Н. Физиол. ж. СССР, **70**, 9, 1256—1264, 1984.
20. Кикнадзе Г. И., Унгиадзе А. А. ВНД (в печати).
21. Коридзе М. Г. Роль поясной извилины в организации мотивационно-эмоциональных реакций и краткосрочной памяти кошки. Автореф. канд. дисс., Тбилиси, 1968.
22. Курепина М. М. Мозг «Наука», М., 1981.
23. Леонтович Т. А. Успехи соврем. биол., **65**, 1, 34—46, 1968.
24. Начкебия А. Д., Начкебия Н. Г., Онiani Л. Т. Изв. АН ГССР, сер. биол., **10**, 5, 362—355, 1984.
26. Поляков Г. И. Цитоархитектоника коры большого мозга человека, М., 1949, 33—92.
25. Поляков Г. И. Журн. невропатол. и психiatr., **9**, 6, 1940, 55—56.
27. Поляков Г. И. Проблемы происхождения рефлекторных механизмов мозга, М., 1964.
28. Сотниченко Т. С. Архив анат., **43**, 3—10, 1962.
29. Сотниченко Т. С. Ж. эволюц. биохим. и физиол., **6**, 5, 571—576, 1970.
30. Стафехина В. С., Виноградова О. С. Лимбическая система мозга, Пушкино, 1973.
31. Стафехина В. С., Виноградова О. С. Журн. высш. нервн. деят., **26**, 1074—1081, 1976.
32. Унгиадзе А. А. Сообщения АН ГССР, **97**, 2, 1—4, 1980.
33. Унгиадзе А. А. Нейрофизиология, **13**, 1, 7—13, 1981.
34. Унгиадзе А. А. Изв. АН ГССР, сер. биол., **9**, 2, 85—90, 1983.
35. Унгиадзе А. А. Нейрофизиология, **18**, 4, 549—552, 1986.
36. Унгиадзе А. А. Изв. АН ГССР, сер. биол., **16**, 6, 1—6, 1990.
37. Филимонов И. Н. Труды Института мозга, М., 3—4, 1957, 15—106.
38. Цинда М. И. Развитие мозга ребенка, «Наука», Л., 1965, 205—217.
39. Чернышев А. С. Труды Института мозга, М., 5, 239—273, 1946.
40. Шабан В. М. Нейрофизиология, **2**, 4, 349—353, 1970.
41. Шарапов Б. И. Врачебное дело, **8**, 61—74, 1965.
42. Шевченко Ю. Г. Эволюция коры мозга приматов и человека, «Наука», М., 1971.
43. Школьник-Яррос Е. Г. Журн. высш. нервн. деят., **4**, 2, 289—304, 1954.
44. Adey W. R., Meyer M. Brain, **75**, 358—384, 1952.
45. Adey W. R., Sunderland M. D., Dunlop S. W. Electroenceph. clin. Neurophysiol., **9**, 2, 309—324, 1957.
46. Allen W. F. J. comp. Neurol., **188**, 4 25—432, 1948.



NSF
1988:BP10035

47. Basett J. L., Berger T. W. *Brain Res.*, 248, 2, 371—376, 1982.

48. Bekstead R. M. J. *comp. Neurol.*, 184, 1, 43—62, 1979.

49. Berger T. W., Milner T. A., Sman-son G. W. *Brain Res.*, 201, 2, 411—417, 1980.

50. Brodman K. *Vergleichende Lokalisationslehre der Grosshirnrinde in thren Prinzipien dargestellt auf Grund des Zellenbaues*, Leipzig, 1925.

51. Cajal R. Y. S. *Studies of the Cerebral Cortex (Limbic structures)* London, Lloyd—Luke, 1955, 179.

52. Cowan W. M., Powell T. P. S. *Proc. Roy. Soc., Ser. B*, 143, 114—125, 1954.

53. Cragg B. G., Hamlyn L. L. *Exp. Neurol.*, 1, 187, 1959.

54. Dagi T. F., Poletti C. E. *Fed. Proc.*, 32, 384—393, 1979.

55. Daitz H. M., Powell T. P. S. *J. Neurol. Neurosurg. Psychiat.*, 17, 114, 1954.

56. Domesick V. B. *Brain Res.*, 12, 2, 296—320, 1969.

57. Domesick V. B. *Brain Res.*, 20, 19—23, 1970.

58. Foltz E. L., White L. E. *J. Neurosurg.*, 14, 6, 655—673, 1957.

59. Gardner W. D., Fox C. A. *Anat. Rec.*, 100, 663—704, 1948.

60. Glaser G. H. *J. Nerv. Ment. Dis.*, 144, 391—397, 1967.

61. Gray J. A. *The neuropsychology of anxiety: an enquiry into the functions of the functions of the septo-hippocampal system*. Clarendon press, Oxford, New York, 1982.

62. Green J. D., Adey W. R. *Electroenceph. clin. Neurophysiol.*, 8, 2, 245, 1956

63. Green J. D., Arduini A. A. *J. Neurophysiol.*, 17, 533—557, 1954.

64. Hjorth-Simonsen A. *J. comp. Neurol.*, 146, 219—232, 1972.

65. Kaitz S. S., Robertson R. T. *Anat. Rec.* 176, 91A, 1980.

66. Koridze M., Oniani T. *Acta Neurobiol. exp.*, 32, 9—17, 1972.

67. Lopes da Silva F. H., Arnolds D. A. *Ann. Rev. Physiol.*, 40, 185—216, 1978.

68. Lorente de No R. *J. Psychol. Neurol. (Leipz.)*, 46, 113—177, 1934.

69. Manjavize SH. D., Gvetadze L. B., Oniani L. T. *Neurobiology of sleep-wakefulness cycle* (ed. Oniani T.), „Metsniereba“, Tbilisi, 1988.

70. Merei F. T., Hasznos Th., Grasty-an E. *Experimentelle Beitrage zur Pathogenese der commotio cerebri*, Budapest, 1957.

71. Meunier M., Destrade J. *Behav. Brain Res.*, 27, 2, 161—172, 1988.

72. Mitchell S. J., Ranck J. B. *Brain Res.*, 189, 49—66, 1980.

73. Nimi K., Inoshita H. *Proc. Japan Acad. Sci.*, 47, 664—672, 1971.

74. Nimi K., Kuwahara E. *J. Hirnforsch.*, 14, 303—315, 1973.

75. Pandya D. N., Van Hoesen G. W., Mesulam M. M. *Anat. Rec.*, 193, 643—694, 1979.

76. Papez J. W. *Arch. Neurol. Psychiat.*, 38, 3, 725—744, 1937.

77. Parmeggiani P. L., Azzaroni A., Lenzi P. *Brain Res.*, 30, 2, 357—374, 1071.

78. Parmeggiani P. L., Lenzi P., Azzaroni A. *Brain Res.*, 67, 2, 269—278, 1974.

79. Píuhl W. *Gegenbaurs morph. Jahrb. Abt. 1, B. 94, H. 1—2*, 111—150, 1954.

80. Pribram K. H., Fulton J. *Brain*, 77, 34—48, 1954.

81. Purpura D. P., Mc Murtry J. G. *J. Neurophysiol.*, 29, 954—968, 1966.

82. Raisman G., Cowan W. M., Powell T. P. S. *Brain*, 88, 4, 963—996, 1965.

83. Raisman G., Cowan W. M., Powell T. P. S. *Brain*, 89, 1, 83—108, 1966.

84. Robertson R. T., Kaitz S. S. *J. comp. Neurol.*, 195, 501—525, 1981.

85. Rose J. E. *J. Anat.*, 74, 01—104, 1939.

86. Rose J. E., Woolsey C. N. *J. comp. Neurol.*, 89, 3, 279—347, 1948.

87. Shipley M. T. *Brain Res.*, 67, 1, 162—168, 1974.

88. Simmons K. J. *Anat. Rec.*, 169, 3, 429—434, 1971.

89. Somogyi Gy., Tombol T., Kiss A. *Acta morphol.*, 17, 342—348, 1969.

90. Steward O. *J. comp. Neurol.*, 167, 285—314, 1976.

91. Stumpf C., Gogolak G. *Ann. N. Y. Acad. Sci., Mar.*, 142, 143—158, 1967.

92. Suzuki Sh. S., Smith G. *Electroenceph. clin. Neurophysiol.*, 70, 1, 70—83, 1988.

93. Swanson L. W., Cowan W. M. *J. comp. Neurol.*, 172, 49—84, 1977.

94. Van Hoesen G. W., Pandya D. N., *Anat. Rec.*, 169, 445—456, 1971.

95. Van Hoesen G. W., Pandya D. N., *Brain Res.*, 95, 1—59, 1975.

96. Van Hoesen G. W., Pandya D. N., Butters N., *Brain Res.*, 95, 1, 25—38, 1975.

97. Vilensky J. A., Van Hoesen G. W. *Brain Res.*, 205, 2, 391—395, 1981.



98. Vogt B. A., Miller M. W. J. comp. *Neurol.*, **216**, 2, 192—210, 1983.
 99. Vongssetts—Couchay Ch., Sessler F. M. C. R. Acad. Sci., Ser. 3, 296, 18, 877—879, 1983.
 100. Way J. S. *Electroencephal. clin. Neurophysiol.*, **14**, 78—89, 1962.
 101. Whihgt R. R., Ward J. W. *Electroencephal. clin. Neurophysiol.*, **20**, 591—602, 1966.
 102. White L. E., Nelson W. M., Foltz L. E. *Exp. Neurol.*, **2**, 4, 406—421, 1960.
 103. Zimmer J. *Brain Res.*, **64**, 299—312, 1973.

სარტყელის ხვეული და მისი ნეირონული კავშირები

ა. უნგიადე

საქართველოს მეცნიერებათა აკადემიის ი. ბერიტაშვილის სახელობის ფიზიოლოგიის ინსტიტუტი, თბილისი

რ ე ზ ი უ მ ე

არსებული სამეცნიერო ლიტერატურის ანალიზის საფუძველზე ნაშრომში მოცემულია დაწვრილებითი მონაცემები სარტყელის ხვეულის სტრუქტურული ორგანიზაციის შესახებ. მრავალრიცხოვან მორფოლოგიურ და ელექტროფიზიოლოგიურ

გამოკვლევათა განხილვა საშუალებას იძლევა ვივარაუდოთ შესაძლებელ ნეირონულ კავშირთა არსებობა სარტყელის ხვეულსა და ჰიპოკამპს შორის, რაც ძირითად როლს უნდა თამაშობდეს ჰიპოკამპის გამოწვეული პასუხების გენეზში.

CINGULATE GYRUS AND ITS NEURONAL PATHWAYS

A. UNGIADZE

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

Summary

An attempt has been made to survey the data available in the literature concerning the structural organization of the cingulate gyrus. A number of morphological and electrophysiological

studies has been considered in possible neuronal relations of the cingulate gyrus with the hippocampus, involved in the genesis of the hippocampal activity.



УДК 616—006.442.2

ЦИТОЛОГИЯ

ВОЗМОЖНЫЙ МЕХАНИЗМ ФОРМИРОВАНИЯ ЗЛОКАЧЕСТВЕННЫХ НОВООБРАЗОВАНИЙ У ЛИЦ С ТРАНСПЛАНТИРОВАННЫМИ АЛЛОГЕННЫМИ ВНУТРЕННИМИ ОРГАНАМИ

Г. К. Гогичадзе

НИИ гематологии и переливания крови им. Г. М. Мухадзе Министерства здравоохранения и соцобеспечения Республики Грузия, Тбилиси

Поступила в редакцию 26.06.90

Факты образования злокачественных новообразований при трансплантации аллогенных внутренних органов рассматриваются с позиции гибридационной гипотезы канцерогенеза. При иммунологическом конфликте, неизбежном при пересадке органов даже при тщательном подборе, вместе с процессом деструкции клеток, в некоторых случаях может произойти соматическая гибридизация между иммунокомпетентными клетками реципиента и любой клеткой пересаженной ткани донора, что может завершиться образованием опухолевой клетки. Поскольку клетки лимфоидной ткани, а также макрофаги являются тем морфологическим субстратом, который обеспечивает становление иммунного ответа на антигенное раздражение, одним из обязательных объектов при слиянии во время трансплантации органов могут явиться клетки именно данного гистогенеза. Пересадка аллогенных внутренних органов нередко может способствовать также рецидиву и прогрессированию опухолевого процесса.

Как известно, трансплантация аллогенных внутренних органов в настоящее время получила широкое распространение. В каждодневной клинической практике обычными стали пересадки почек, печени, поджелудочной железы, сердца, костного мозга. Что касается гемотрансфузии, то она широко применяется вот уже несколько десятилетий. Трансплантация аллогенных внутренних органов производится практически здоровым (в смысле онкогенности) лицам, например при необратимых поражениях сердца, почек и т. д. Костный мозг в подавляющем большинстве случаев трансплантируется больным лейкозами, лучевыми поражениями, с врожденными и приобретенными дефектами иммунитета, с депрессивными состояниями (гипо-, апластические анемии), кровь же переливается лейкозным

больным, больным гемофилией, с анемиями различной этиологии, а также здоровым лицам, например, беременным и т. д.

Во всех случаях аллотрансплантации исследователи сталкиваются с явлением биологической несовместимости тканей, что может привести к некоторым серьезным осложнениям. В частности, вследствие различного антигенного строения тканей донора и реципиента, т. е. в результате расхождения по антигенам главного комплекса гистосовместимости, может произойти отторжение аллотрансплантата. На подавление этой реакции применяются различные средства, ослабляющие иммунитет реципиента — тотальное облучение тела, анти тимичеситарный глобулин, моноклональные анти-Т-клеточные антитела, дренирование грудного протока, различные химические иммунодепрессанты.

Приобретенный на сегодняшний день опыт в трансплантологии несомненно свидетельствует о том, что даже в случаях максимальной антигенной совместимости донора и реципиента иммунологический конфликт неизбежен, хотя реакция отторжения наступает значительно реже, протекает сравнительно вяло и достаточно легко подавляется иммуносупрессорными средствами.

По данным некоторых клиник, занимающихся проблемами трансплантологии, у реципиента с трансплантированными внутренними органами значительно повышена частота опухолей ряда локализаций и гистогенеза, но особенно резко лимфосарком (в 35 раз) и монобластных сарком, т. е. ретикулосарком (в 350 раз по сравнению с популяцией того же возраста). Если обычно злокачественные новообразования данного гистогенеза составляют лишь малую часть всех опухолей, то при трансплантациях внутренних органов они являются одним из основных видов неоплазм. В связи с этим следует также подчеркнуть, что «хроническая реакция трансплантат против хозяина» («ХРТПХ») при пересадках органов является одним из основных методов получения в эксперименте злокачественных опухолей лимфоидной ткани, в частности лимфосарком. Например, в результате индукции «ХРТПХ» во время беременности у потомков данных мышей развиваются лимфосаркомы или же другие лимфопролиферативные новообразования. О том же свидетельствуют данные некоторых трансплантологических центров [25, 30, 34], а также сообщения об ассоциации трансплантации цельной крови с увеличением риска рецидива злокачественного процесса [12, 13, 20, 26].

Относительно предположительных механизмов развития опухолей в этих случаях высказывались различные мнения: прямое канцерогенное воздействие иммунодепрессантов, активация эндогенных вирусов, подавление иммунитета [9, 24, 29]. Возможна также постоянная, перманентная реакция сенсibilизированных донорских лимфоцитов против антигенов реципиента, т. е. хроническая аллоантигенная стимуляция, что в результате может привести к малигнизации лимфоидной ткани [11]. В целом взаимоотношения

между клетками донора и реципиента весьма сложные и многогранные.

Наиболее аргументированной в этом аспекте до последнего времени казалась теория иммунологического надзора Ф. Бернета [1, 14]. Однако, на основании ряда исследований [5, 10, 11], можно высказать предположение, что иммунодефицит необязательно условие для возникновения злокачественных новообразований и что недостаточность иммунитета — скорее следствие, а не причина злокачественного процесса. К такому же мнению пришел и Олд [28] — на основании скрупулезного анализа своих и литературных данных. Вместе с тем с позиции иммунологического надзора сложно объяснить некоторые аспекты экспериментальной биологии и клинической медицины: например, почему при «ХРТПХ» в подавляющем большинстве случаев развиваются опухоли лимфоидной и ретикулярной ткани, а не неоплазмы другого гистогенеза.

Факты образования злокачественных новообразований при трансплантации аллогенных внутренних органов мы впервые предлагаем трактовать с позиции гибридной гипотезы (кариогамной) гипотезы канцерогенеза [19]. На наш взгляд, между клетками реципиента и донора при иммунологическом конфликте, неизбежном при пересадке органов — даже при тщательном подборе, вместе с процессом деструкции клеток в некоторых случаях происходит соматическая гибридизация между иммунокомпетентными клетками (лимфоцитом или макрофагом) реципиента и любой клеткой пересаженной ткани донора. Это может завершиться образованием опухолевой клетки, синкариона. На I стадии канцерогенеза, после слияния клеток, вероятно, происходит формирование двухядерной клетки, т. е. гетерокариона. После воссоединения же ядер (в результате синхронного митоза или же простого их слияния) формируется одноядерный гибридный (иницированный, предканцерозный) синкарион. На II стадии онкогенеза (промоции), после ряда превращений на молекулярном уровне, может образоваться опухолевый синкарион с неограниченной способностью к пролиферации [2, 3, 4].



Поскольку клетки лимфоидной ткани, а также макрофаги, являются тем морфологическим субстратом, который обеспечивает становление иммунного ответа на антигенное раздражение, одними из обязательных объектов при слиянии во время трансплантации органов могут являться клетки именно данного гистогенеза. Тем более, что известен процесс контакта и проникновения лимфоцитов в другие клетки при иммунологическом конфликте («периполез» и «эмпериполез», соответственно) [6, 29], а также факты слияния макрофагов с другими клетками [27]. В процессе слияния наиболее активными могут быть моноциты и Т-лимфоциты реципиента, которые являются эффекторными клетками против антигенов тканевой несовместимости. Исходя из этого и принимая во внимание тот факт, что лимфоциты и макрофаги являются доминантными клетками и в отношении фенотипических свойств, возникшие при пересадках аллогенных органов злокачественные новообразования в большинстве случаев могут иметь лимфоидную (Т- или В-клеточную), моноцитонидную или же так называемую «промежуточную» морфологию.

Таким образом, слияние клеток донора и реципиента в некоторых случаях может создать клетку со злокачественными свойствами. В отличие от аутогибридизации, где опухолевые клетки могут формироваться на основе слияния клеток одного и того же организма, при трансплантации аллогенных внутренних органов речь, вероятно, должна идти об алло(гомо)гибридизации.

Реальность этой возможности (т. е. соматической гибридации при трансплантации органов) подтверждается и тем обстоятельством, что некоторые иммунодепрессанты, применяемые при подавлении иммунологической реактивности реципиента при трансплантациях, располагают фузогенными свойствами, т. е. способны индуцировать слияние клеток [21].

С другой стороны, в развитии злокачественных новообразований, вероятно, следует учесть и важную роль иммунодефицитных состояний (как первичных, т. е. врожденных, так и вторичных, т. е. приобретенных). Как известно, в случаях иммунодефицита (кстати, как и в норме) может раз-

виться воспаление, индуцированное трансплантацией аллогенных внутренних органов или же различными химическими, физическими и биологическими агентами. А воспаление, особенно хроническое, может явиться одним из условий формирования злокачественной клетки. В частности, при данном состоянии из-за разнообразных клеточных контактов, посредством персистирующих в организме вирусов (герпесоподобных, ретровирусов, цитомегаловируса) или же других причин, возможно стимулирование процесса слияния клеток и соматической гибридации со всеми вытекающими отсюда последствиями. Исходя из вышесказанного, можно заключить, что иммунодефицит в некоторых случаях может быть следствием, а в других — причиной развития злокачественных новообразований.

Пересадка аллогенных внутренних органов в некоторых случаях может способствовать и рецидиву опухолевого процесса. Факты рецидива в большинстве случаев могут иметь место при микротрансплантациях лейкозным больным в стадии клинико-гематологической ремиссии или же лицам, с еще не выявленным, «дремлющим» лейкозным процессом. В таких случаях, наряду с «ХРТПХ», следует ожидать рецидива или же прогрессирования основного заболевания кроветворной системы. Так как трансплантированные гемопоэтические клетки костного мозга, согласно известному механизму «homing» (т. е. возвращение к дому) расселяются в своих привычных очагах, т. е. в различных ростках костного мозга реципиента, именно там и следует ожидать формирования злокачественной клетки, возможно, с новыми гено- и фенотипическими свойствами.

Вместе с тем нельзя исключить и такие случаи, когда трансплантация аллогенных внутренних компактных органов производится лицам с еще не выявленным, латентным опухолевым процессом. В таком случае, следует ожидать образования нового опухолевого очага в организме реципиента. Например, при трансплантации почек реципиенту с еще не установленным поражением легкого, на фоне значительной иммунорегуляторной дисфункции, индуцируемой опухолевым процессом, вероятность форми-

рования монобластной саркомы (ретикулосаркомы) или же лимфосаркомы, локализованных вблизи пересаженного органа (или в самом органе), значительно возрастает.

Обсуждаемые некоторыми исследователями механизмы рецидива опухолевого процесса при трансплантации внутренних органов включают: перенос вируса, доминантного онкогена или хромосомы дегенерирующей лейкозной клетки облученного реципиента в трансплантированную клетку костного мозга донора [17]. Считается также, что рецидив может возникнуть из-за того, что не все злокачественные клетки были уничтожены применявшейся химиотерапией (однако рецидивы лейкоза нередко наступают после весьма длительных ремиссий). По мнению других, лейкоз возникает как бы *de novo* [16, 33]. В связи с этим следует отметить, что ни один из представленных механизмов нельзя считать бесспорным.

На наш взгляд, механизм рецидива или же прогрессии опухолевого процесса, возможно, также заключается в соматической гибридизации лейкозных клеток реципиента с трансплантируемыми нормальными клетками костного мозга. Тем более, что не исключена повышенная способность опухолевых клеток к соматической гибридизации. С другой стороны, данные о прогнозировании результатов слияния опухолевых клеток с нормальными или же с другими опухолевыми клетками, весьма противоречивы. Как показали результаты многочисленных работ, злокачественность в некоторых случаях является доминантным [8, 24, 36], а в других — рецессивным признаком [22, 23, 32].

Подтверждением предположения о слиянии опухолевых клеток с себе подобными, а также с нормальными клеточными элементами при транс-

плантации аллогенных внутренних органов, могут быть наблюдения в эксперименте. В частности, исследователи инъецировали клетки опухолей человека в защитные мешки хомячков и обнаружили, что опухолевые клетки спонтанно сливались с нормальными клетками реципиента, формируя при этом опухолевые гибридные клетки нового гено- и фенотипа. Было показано также [35], что при пересадке лейкозным больным костного мозга, клетки донора порой могли гибридизироваться с лейкозными клетками реципиента, в результате чего формировались опухолевые синкарионы.

Что касается сути «спонтанного» рецидива опухолевого процесса (т. е. без трансплантации внутренних органов), опухолевой прогрессии, а также морфологической и цитогенетической гетерогенности опухолевых клеток, то она, вероятно, также заключается в соматической гибридизации (аутогибридизации). Уже сформировавшиеся в макроорганизме опухолевые клетки, вероятно, могут гибридизироваться с другими клетками соответствующей ткани того же организма [7, 15, 31]. В результате может сформироваться опухолевый синкарион с новыми (чаще с еще более злокачественными) гено- и фенотипическими признаками.

Таким образом, при трансплантации различных аллогенных внутренних органов, костного мозга и даже переливания крови и ее компонентов, врачи должны учитывать реальную возможность серьезных осложнений в виду появления у неонкологических реципиентов опухолевых клеток донорского (или же недонорского) типа, а у опухоленосителей — рецидива или же прогрессии злокачественного процесса.

ЛИТЕРАТУРА

1. Бернет Ф. Клеточная иммунология, М., «Мир», 1971.
2. Гогичадзе Г. К. В сб.: Актуальные проблемы гематологии и трансфузиологии (Тр. Ин-та ГПК МЗ ГССР), «Мецниереба», Тбилиси, 1987, 98—104.
3. Гогичадзе Г. К. Изв. АН ГССР, сер. биол., 14, 166—173, 1988.
4. Гогичадзе Г. К. Гематол. трансфузиол., 6, 54—57, 1989.
5. Грицман Ю. Я. Беседы врача-онколога, «Знание», М., 1988.
6. Михайловская Э. В. Гематол. трансфузиол., 3, 60—62, 1989.
7. Наперстников В. В., Доросевич А. Е. Арх. патол., 1, 83—88, 1987.



8. Рингерц Н., Сэвидж Р. Гибридные клетки, «Мир», М., 1979.

9. Турусов В. С. Арх. патол., 2, 3—13, 1983.

10. Уманский Ю. А. Эксп. онкол., 6, 72—73, 1980.

11. Шевелев А. С. Иммунология, 5, 86—87, 1982.

12. Blumberg N., Heal J. M. Cancer invest., 5(6), 615—625, 1987.

13. Blumberg N., Heal J., Chuang C. Ann. surgery, 207, 4, 410—416, 1988.

14. Burnet F. M. Brit. med. j., 1, 5022, 779—793, 1957.

15. De Beatselier P., Roos E., Brys L. Proc. symp. "Biochemistry and molecular genetics of cancer metastasis", Boston, 1986, 185—198.

16. Deeg H. J., Sanders J., Martin P. Exp. Hematol., 12, 660, 1984.

17. Fialkow P. J., Thomas E. D., Bryant J. I., Neiman P. E. Lancet, 1, 251, 1971.

18. Goldenberg D. M., Pavia R. A., Tsao M. C. Nature, 250, 649—651, 1974.

19. Hallion L. Press med., XV, 10—11, 1907.

20. Hamblin T. J. Brit. med. j., 293, 517—518, 1986.

21. Higgins P. J., Borenfreund E., Wahrman M. Z., Bendich A. Europ. j. cancer, 16, 8, 1047—1055, 1980.

22. Harris H. Cancer res., 48, 12, 3302—3306, 1988.

23. Klinger H. P. Cytogenet. cell genet., 32, 68—84, 1982.

24. Larissa L., Schirmacher V., Pfluger E. J. exp. Med., 160, 5, 1579—1584, 1984.

25. Macleod A. M., Catto G. R. D. Brit. med. J., 297, 6640, 4—5, 1988.

26. Moffat L. E., Sanderland G. T. Brit. med. j., 291, 971, 1—2, 1985.

27. Munzarova M., Kovacic J. Lancet 1, 8539, 952—954, 1987.

28. Old L. J. Cancer Res., 41, 2, 361—375, 1981.

29. Pasquale A., Peterlini P., Guagliano D. Brit. j. Haemat., 60, 2, 384—386, 1985.

30. Shapiro R. S., Mc Clain K., Frizzera G. Blood, 71, 1234—1243, 1988.

31. Sinkovics J. G. J. Med., 12, 109—126, 1981.

32. Straus D. S., Mohandas T. Som. cell mol. genet., 13, 6, 587—596, 1987.

33. Thomas E. D., Bryant J. I., Buckner C. D. Lancet, 1, 1310, 1972.

34. Turner J. H., Hitchinson D. L., Petricciani J. C. Scand. j. Haematol., 10, 5, 358—366, 1973.

35. Von Heiden H. W., Moore G. E. Blood, 40, 5, 754—758, 1972.

36. Weissman B. E., Mark C. S., Benedict W. F., Stanbridge E. J. Progr. clin. biol. res., 175, 141—149, 1985.

ავთვისებრიანი სიმსივნეების განვითარების შესაძლო მექანიზმი
 ალგებური შინაგანი ორგანოების ტრანსპლანტაციის
 შემთხვევებში

8. გობიჩაძე

საქართველოს ჯანმრთელობის დაცვის და სოცულურ მედიცინის სამინისტროს აკად.
 გ. მუხაძის სახელობის პედატოლოგიისა და სისხლის გადასხმის ს/კ ინსტიტუტი, თბილისი

რეზიუმე

ალგებური შინაგანი ორგანოების ტრანსპლანტაციის შემთხვევებში ავთვისებიანი სიმსივნეების განვითარების მიზეზები განხილული არიან კანცეროგენეზის პიბრიდიზაციული პიპოთეზის პოზიციებიდან. იმუნოლოგიური კონფლიქტის დროს, რაც თითქმის აუცილებელი პირობაა ქსო-

ვილების გადაწერვისას, შესაძლებელია მოხდეს სომატური ჰიბრიდიზაცია რეციპიენტის იმუნოკომპეტენტურ უჯრედებსა და დონორის უჯრედებს შორის, რაც შესაძლებელია დასრულდეს სიმსივნური უჯრედის წარმოქმნით.

POSSIBLE MECHANISM OF MALIGNANT TUMOUR FORMATION IN
PATIENTS WITH TRANSPLANTED ALLOGENIC INTERNAL ORGANS



G. GOGICHADZE

Institute of Hematology and Blood Transfusion, Georgian Ministry of Health
and Social Maintenance, Tbilisi

S u m m a r y

Malignant tumour formation in patients with transplanted allogenic internal organs may be observed from position of so-called karyogam theory of carcinogenesis. In case of immunologic conflict, it

can happen somatic hybridization between recipient's immunocompetent cells and any cell of donor, which may complete with formation of tumour cell.

УДК 616—006 : 612.017.1

ЦИТОЛОГИЯ

УРОВЕНЬ ДИФФЕРЕНЦИРОВКИ НЕОПЛАСТИЧЕСКИХ КЛЕТОК ПРИ В-КЛЕТОЧНОМ ОСТРОМ ЛИМФОБЛАСТНОМ ЛЕЙКОЗЕ

Л. В. Мухелишвили, К. Ц. Кения, М. В. Манджгаладзе,
М. М. Зоделава

*Онкологический научный центр Министерства здравоохранения и соцобеспечения
Республики Грузия, Тбилиси*

Поступила в редакцию 05.07.90

С целью установления уровня дифференцировки бластных клеток при В-клеточном остром лимфобластовом лейкозе (В-ОЛЛ) проведено сравнительное иммунологическое и электронно-микроскопическое исследование неопластических В-клеток различной зрелости. Установлено, что лейкозные клетки в исследованных 2 случаях В-ОЛЛ по уровню дифференцировки соответствовали активированным В-лимфоцитам, что свидетельствует об их периферическом происхождении. Данный вывод хорошо объясняет причину существующего фенотипического сходства между клетками В-ОЛЛ и лимфомы Беркитта, а также особенно неблагоприятный прогноз при этом подварианте острого лимфобластного лейкоза.

К настоящему времени при помощи иммунофенотипирования моноклональными антителами (МКАТ) выделены иммунологические подварианты острого лимфобластного лейкоза (ОЛЛ), отражающие ранние стадии лимфоидной дифференцировки у человека [5, 6]. В частности, к случаям ОЛЛ, отражающим последовательные стадии В-клеточной дифференцировки относят подварианты: «ранние предшественники В-клеток», «общий», «пре-В-» и «В-клеточный». Кооперированными рандомизированными исследованиями показано, что реже других встречается В-клеточный подвариант (всего в 1—2% случаев ОЛЛ), характеризующийся наиболее неблагоприятным прогнозом и слабым ответом на терапию [4, 7].

До конца не ясен вопрос о природе бластных клеток при В-ОЛЛ. Из-за наличия на их поверхности молекул иммуноглобулинов и некоторых других маркеров предполагается, что они более соответствуют активирован-

ным В-лимфоцитам, чем незрелым В-клеткам [8]. Однако исследование только лишь иммунологического фенотипа не дает возможности достоверно определить их место в В-клеточном ряду. Очевидно, для выяснения данного вопроса необходимо применение по крайней мере еще одного критерия, характеризующего уровень дифференцировки клетки.

В предыдущих исследованиях нами было показано, что вместе с антигенной композицией в процессе дифференцировки закономерно меняются некоторые субмикроскопические черты лимфоидной клетки [2, 3]. Исходя из этого, для установления уровня дифференцировки клеток при В-ОЛЛ в настоящей работе проводили сравнительную электронно-микроскопическую морфометрию клеток вышеуказанных иммунологических подвариантов ОЛЛ, а также В-клеточного хронического лимфолейкоза (ХЛЛ), патологический субстрат при котором представлен зрелыми В-лимфоцитами.

МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ

Костный мозг и периферическая кровь брались у больных ОЛЛ с высоким blastsом (более чем 50%) и ХЛЛ. Исследование проводили до начала цитостатической химиотерапии.

Для электронно-микроскопического исследования клетки фиксировали в 2,5%-ном глутаральдегиде на 0,1 M какодилатном буфере. После отмывки их вторично фиксировали в 1,0%

Таблица 1

Характеристика МКАТ, использованных для иммунофенотипирования лейкозных клеток В-лимфоидного ряда *

МКАТ	Кластеры дифференцировки	Клеточная специфичность
ИКО-1	HLA—DR	Ia ⁺ -клетки (В-лимфоидный ряд, незрелые гемопоэтические клетки, активированные Т-лимфоциты)
ДАКО—сАЛЛА	CD10	Незрелые клетки В-лимфоидного ряда
ДАКО—CD19	CD19	Пан-В-клеточный маркер
ДАКО—T2	CD7	Пан-Т-клеточный маркер
ЛТ-1	CD5	Пан-Т-клеточный маркер, клетки В-ХЛЛ
ИКО-20	CD38	T10-клетки: незрелые клетки Т-лимфоидного, миелоидного и моноцитарного рядов, активированные Т- и Nκ-лимфоциты
ОКТ-11	CD2	E ⁺ -клетки Т-лимфоидного ряда
ОКТ-3	CD3	Зрелые клетки Т-лимфоидного ряда
ИКО-12	CD22	В-клетки (от пре-В-клеток до плазматцитов)
ИКО-60	CD18	β-цепь молекул LFA-1, CR3 и CR4 рецепторов комплекса на субпопуляции лимфоцитов, гранулоцитах и моноцитах

* МКАТ серии ИКО получены в ВОИЦ АМН СССР А. Ю. Барышниковым и сотр., ОКТ производства фирмы „Origo Pharmaceutical (США); ДАКО производства фирмы Dakopatts“ (Дания); ЛТ получены в Институте иммунологии МЗ СССР А. В. Филатовым и сотр.

Мононуклеарные клетки выделяли центрифугированием в градиенте плотности фиколл-верографина ($d = 1,076 \text{ г/см}^3$). Непрямую реакцию иммунофлуоресценции проводили в соответствии с общепринятой методикой. Характеристика использованных МКАТ приведена в табл. 1. В качестве метки применяли конъюгированную с FITC антимишину козью сыворотку («Sigma», США). Наличие у клеток поверхностных (пИГ) и цитоплазматических (цИГ) иммуноглобулинов проверяли по методике, описанной в [1] при помощи конъюгированных с FITC антисывороток к иммуноглобулинам человека («Behringwerke», ФРГ). Количество маркированных клеток определяли в люминесцентном микроскопе ЛЮМАМ-Р2 (СССР), просматривая по 300 клеток в каждом из препаратов. Контролем служил неинкубированный с МКАТ материал.

OsO₄, проводили через спирты восходящей концентрации и ацетон, затем заключали в эпон-812. Ультратонкие срезы готовили на ультратоме LKB-8800 (Швеция), контрастировали уранил-ацетатом и цитратом свинца, просматривали в электронных микроскопах JEM-7 («JEOL», Япония) и EM-410 («PHILIPS», Нидерланды). С помощью автоматического анализатора изображения SEM-IPS («KONT-ROUN», ФРГ) проводили морфометрию 15—20 клеток каждого исследуемого больного. В частности, устанавливали значения соотношений площадей ядра и цитоплазмы (S_n/S_c), ядрышка и ядра (S_{nuc1}/S_n), гетерохроматина и эухроматина (S_{het}/S_{eu}). Полученные данные обрабатывались статистически при помощи компьютерной системы указанного прибора с использованием критерия Стьюдента и U-теста.



Были исследованы 67 больных ОЛЛ и 9 больных ХЛЛ. У 11 больных был диагностирован Т-клеточный ОЛЛ (16,4% общего числа больных ОЛЛ). Клетки остальных 56 пациентов имели на своей поверхности антигены, характерные для В-лимфоидного ряда (табл. 2). Так, бластные клетки 9 больных (13,4%) положи-

ных (2,9%) экспрессировали пИГ, что характерно для В-ОЛЛ. Неопластические лимфоциты во всех 9 случаях ХЛЛ экспрессировали на своей поверхности маркеры, реагирующие с ИКО-1, ИКО-12, ИКО-60, ЛТ-1, а также пИГ в разных сочетаниях, что свидетельствовало об их В-линейной природе.

Таблица 2

Антигенная композиция бластных клеток В-лимфоидного ряда

Номер больного	Содержание антиген-положительных клеток в препарате, %									Иммунологический подвариант
	ИКО-1	ДАКО-CD19	ДАКО-sALLA	ДАКО-T2	ЛТ-1	ИКО-20	ОКТ-11	ОКТ-3	пИГ	
1-9	+	+	-	-	-	-	-	-	-	Ранние предшественники В-клеток
10-54	+	+	+	-	-	-	-	-	-	Общий
55-56	+	+	-	-	-	-	-	-	+	В-клеточный

Примечание: (+)—более 30% положительно реагирующих клеток в иммунофлуоресцентном тесте (-)—менее 30%.

тельно реагировали только с МКАТ ДАКО-CD19 и ИКО-1 и поэтому были отнесены к иммунологическому подварианту «ранние предшественники В-клеток». У 45 больных (67,2) бластные клетки экспрессировали на своей поверхности еще и общий антиген ОЛЛ (sALLA) и, следовательно, соответствовали общему иммунологическому подварианту. Внутри данной группы примерно у 1/4 части больных 10—20% клеток содержало цИГ (пре-В-ОЛЛ). Бластные клетки 2 боль-

Результаты электронно-микроскопической морфометрии неопластических клеток В-лимфоидного ряда приведены в табл. 3. Из этой таблицы следует, что статистически достоверные различия между клетками всех выделенных иммунологических подвариантов ОЛЛ, а также В-ХЛЛ выявлены по соотношению S_{het}/S_{eu} . При сравнении всех имеющихся групп клеток (за исключением В-ОЛЛ) друг с другом наблюдается закономерное увеличение соотношения S_{het}/S_{eu} в за-

Таблица 3

Морфометрические признаки лейкозных клеток В-лимфоидного ряда

Лейкозные клетки	Количество больных	S_n/S_e	S_{het}/S_n	S_{het}/S_{eu}
Ранние предшественники В-клеток	7	$1,9 \pm 0,12$	$0,073 \pm 0,008$	$0,21 \pm 0,035$
Общий ОЛЛ	9	$1,9 \pm 0,1$	$0,065 \pm 0,007$	$0,24 \pm 0,02$
В-ОЛЛ	2	$2,0 \pm 0,15$	$0,081 \pm 0,009$	$0,15 \pm 0,03$
В-ХЛЛ	6	$1,25 \pm 0,1$	$0,036 \pm 0,01$	$1,08 \pm 0,05$

Примечание: $P < 0,05$ при сравнении клеток всех групп по параметру S_{het}/S_{eu} .



ვისმისტი იმისა, რომ უფრო მაღალ დონეზეა განლაგებული ვიდრე უფრო დაბალ დონეზე. ამიტომ, როდესაც უფრო მაღალ დონეზეა განლაგებული, უფრო მაღალია ანტიგენური სტიმულირების ეფექტი. ამიტომ, როდესაც უფრო მაღალ დონეზეა განლაგებული, უფრო მაღალია ანტიგენური სტიმულირების ეფექტი.

ნეოპლასტიკური უჯრედები, როგორც უფრო მაღალი დონის უჯრედები, აქტიურად იმუნოლოგიურად აქტიურია. ამიტომ, როდესაც უფრო მაღალი დონეზეა განლაგებული, უფრო მაღალია ანტიგენური სტიმულირების ეფექტი. ამიტომ, როდესაც უფრო მაღალ დონეზეა განლაგებული, უფრო მაღალია ანტიგენური სტიმულირების ეფექტი.

ფენოტიპურად განსაზღვრული უჯრედების მქონე უჯრედების უფრო მაღალი დონის უჯრედების უფრო მაღალი ანტიგენური სტიმულირების ეფექტი. ამიტომ, როდესაც უფრო მაღალი დონეზეა განლაგებული, უფრო მაღალია ანტიგენური სტიმულირების ეფექტი.

ამიტომ, როდესაც უფრო მაღალი დონეზეა განლაგებული, უფრო მაღალია ანტიგენური სტიმულირების ეფექტი. ამიტომ, როდესაც უფრო მაღალი დონეზეა განლაგებული, უფრო მაღალია ანტიგენური სტიმულირების ეფექტი.

ლიტერატურა

1. იმუნოდაგნოსტიკა გემობლასტოზის (მეთოდური რეკომენდაციები), მზ სსსრ, მ., 1986.
2. მუსხელიშვილი ლ. ვ., მანდჯგალაძე მ. ვ., კენია კ. ც., შარაშიძე ლ. კ., ზოდელავა მ. მ., ბარშინიკოვი ა. იუ. *ექსპ. ონკოლ.*, 11, 456—58, 1989.
3. მუსხელიშვილი ლ. ვ., მანდჯგალაძე მ. ვ., შენგელაია ა. თ. *ექსპ. ონკოლ.*, 12, 3, 31—33, 1990.
4. Bene M. C., Boumsell L., Vannier

- J. P., Garand R. *Nouv. Rev. Fr. Hematol.*, 31, 2, 133—136, 1989.
5. Foon K. A., Gale R. P. *Blood Reviews*, 1, 2, 77—88, 1987.
6. Morphologic and cytogenetic (MIC) working classification of acute lymphoblastic leukaemias, *Cancer Genet. Cytogenet.*, 23, 3, 189—197, 1986.
7. Pui C. H., Crist W. M. *Blood Reviews*, 1, 1, 25—33, 1987.
8. Seligmann M., Vogler L. B., Guglielmi P., Brouet J. C. *Preudhomme J. L. Biochem. Biol. Marckerr Neopl. Transform.*, 1, 9—10, 29—43, 1983.

В-უჯრედოვანი მწვავე ლიმფობლასტური ლეიკოზის ნეოპლასტიკური უჯრედთა დიფერენცირების დონე

ლ. მუსხელიშვილი, ძ. ჯინია, ა. მანჯგალაძე, ა. ზოდელავა

საქართველოს ჯანდაცვის და სოციალურ მედიცინის სამინისტროს ონკოლოგიის სამეცნიერო ცენტრი, თბილისი

რ ე ხ ი უ მ ე

В-უჯრედოვანი მწვავე ლიმფობლასტური ლეიკოზის (В-მლ) უჯრედების დიფერენცირების დონის დადგენის მიზ-

ნით ჩატარებულია В-ლიმფოციტური ბუნების ნეოპლასტიკური უჯრედთა იმუნოლოგიური და ელექტრონულ-მიკროსკოპული



კვლევა დადგენილია, რომ B-მლ-ის გამოკვლევულ 2 შემთხვევაში ნეოპლაზიური უჯრედები დიფერენცირების დონით შესაბამებიან გააქტივირებულ B-უჯრედებს, რაც მოწმობს მათ პერიფერიულ წარმოშობას. ეს შედეგი კარგად ხსნის მოცემუ-

ლი ქვევარიანტისა და ბერკიტის ლიმფომის უჯრედებს შორის არსებულ ფენოტიპური მსგავსების მიზეზს, აგრეთვე B-მლ-ის დროს განსაკუთრებით ცუდი პროგნოზის მიზეზს.

DIFFERENTIATION LEVEL OF B-CELL ACUTE LYMPHOBLASTIC LEUKEMIA CELLS

L. MUSKHELISHVILI, K. KENIA, M. MANJGALADZE, M. ZODELAVA

Cancer Research Centre of Georgian Ministry of Health and Social Maintenance, Tbilisi

S u m m a r y

A comparative immunological and electron microscopic study of neoplastic B-cells was carried out in order to establish the differentiation level B-cell acute lymphoblastic leukemia blast cells (B-ALL). It has been found out that in two investigated cases of B-ALL the differentiation level of leuke-

mic cells corresponded to activated B-lymphocytes proving their peripheral origin. The given conclusion explains the reason of existing phenotype similarity between the B-ALL and Burkitt lymphoma cells as well as the especially unfavourable prognosis regarding B-ALL.

УДК 634.0.—844.2:576.8

БИОХИМИЯ

СРАВНИТЕЛЬНОЕ ИССЛЕДОВАНИЕ ЛАККАЗНОЙ И КАРБОКСИМЕТИЛЦЕЛЛЮЛАЗНОЙ (КМЦазной) АКТИВНОСТЕЙ ВЫСШИХ БАЗИДИОМИЦЕТОВ

Н. М. Глonti, В. И. Элисашвили

Институт биохимии растений АН Грузии, Тбилиси

Поступила в редакцию 29.11.90

Исследован рост пяти штаммов высших базидиомицетов и биосинтез лакказы и КМЦазы при их глубинном культивировании в присутствии citrusовых отходов. Показано, что стационарной фазы роста исследованные грибы достигают через 11 суток культивирования, накапливая в биомассе до 18—19% истинного протеина. С увеличением концентрации citrusового субстрата от 2 до 4—6% лакказная активность грибов повышается, а КМЦазная снижается.

В работе использованы следующие базидиомицеты: *Pleurotus ostreatus* ИБК-105, *Pleurotus ostreatus* ИБР-13, *Pleurotus salignus* 0499, *Panus tigrinus* 0789 и *Lentinus tigrinus* ИБР-101.

Базидиальным грибам приписывается ведущая роль в биодеградации растительных субстратов в природе, так как они обладают активными комплексами лигнолитических, целлюлолитических и других ферментов и благодаря этим свойствам, являются наиболее подходящими для биоconversionи сельскохозяйственных и промышленных отходов растительного происхождения в белковую биомассу

с высокой перевариваемостью, а также для получения ферментных препаратов.

Ранее нами впервые было показано, что citrusовые отходы консервной промышленности могут быть превосходными субстратами для культивирования базидиомицетов и биосинтеза ими фенолоксидазы [1].

Настоящая работа посвящена изучению динамики биосинтеза лакказы, а также карбоксиметилцеллюлазы съедобными базидиомицетами, а также зависимости их ферментативной активности от концентрации citrusового субстрата в среде.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Грибы выращивались на качалке, совершающей 200 об/мин, в колбах на 750 мл, содержащих 50 мл среды следующего состава (%): citrusовый субстрат — 2,0—6,0; NH_4NO_3 — 0,15; KH_2PO_4 — 0,6; Na_2HPO_4 — 0,2; $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ — 0,05; $\text{ZnSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ — 0,0001; $\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ — 0,0005 $\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ — 0,0005, дрожжевой экстракт — 0,2, pH — 5,8. Температура культивирования грибов 27—28°C. После окончания культивирования биомассу

отделяли центрифугированием и определяли содержание в ней истинного протеина по методу Кьельдаля с использованием реактива Несслера и коэффициентом 6,25. В центрифугатах определяли pH и активности ферментов; лакказу определяли по окислению синрингалдазина [2]. За единицу активности лакказы принято количество фермента, окисляющего 1 мкмоль субстрата за 1 мин инкубации. Карбоксиметилцеллюлазу (КМЦазу) оп-



ределяли по образованию редуцирующих сахаров из карбоксиметилцеллюлозы [3]. За единицу активности КМЦазы принято количество фермента,

катализирующее образование 1 м.к.мо. ли глюкозы за 1 мин инкубирования в реакционной среде при температуре 40°C.

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

В табл. 1 представлены результаты изучения внеклеточной ферментативной активности пяти штаммов съедобных базидиальных грибов. Они показывают, что все базидиомицеты хорошо растут при их глубинном культивировании в присутствии цитрусового субстрата. Однако количест-

grinus ИБР-101, увеличивается повышением концентрации субстрата и составляет 268, 496 и 605 мг.

Наивысшей внеклеточной лакказной активностью также обладала культура *L. tigrinus* ИБР-101. Микроорганизмы, относящиеся к роду *Pleurotus*, отличались пониженной лак-

Таблица 1

Влияние концентрации цитрусового субстрата на продукцию протеина, лакказную и целлюлозную активности базидиомицетов

№ штамма	Концентрация субстрата, %	Истинный протеин, %			Лакказа, ед/мл			КМЦаза, ед/мл		
		Продолжительность культивирования, сутки								
		5	8	12	5	8	12	5	8	12
ИБР-101	2	14,9	19,2	18,3	2731	3223	5456	0,12	0,16	0,09
	4	13,6	18,2	17,7	3219	5172	5938	0,11	0,26	0,16
	6	12,1	15,9	16,8	6430	10849	11344	0,11	0,12	0,06
0789	2	15,0	16,9	16,6	68	738	907	0,18	0,29	0,12
	4	14,4	16,7	17,9	211	2175	3215	0,19	0,36	0,24
	6	12,6	14,6	15,4	927	3147	5450	0,11	0,13	0,13
ИБР-13	2	15,8	16,6		130	1312		0,18	0,19	
	4	13,4	15,2		160	3597		0,20	0,30	
	6	12,2	14,3		214	3293		0,09	0,17	
ИБК-105	2	13,3	16,8		30	320		0,24	0,45	
	4	12,5	15,0		32	828		0,20	0,34	
	6	11,3	14,2		60	1750		0,16	0,23	
0449	2	14,9	16,1		10	535		0,30	0,26	
	4	14,3	15,3		117	1420		0,32	0,34	
	6	12,0	13,9		120	2289		0,17	0,20	

во истинного протеина в биомассе, а также биосинтез ферментов зависели от концентрации субстрата и продолжительности культивирования грибов. Наилучший рост выявлен в культуре *Lentinus tigrinus* ИБР-101, в биомассе которой через 8 суток роста накапливалось до 19,2—18,2% истинного протеина при содержании цитрусового субстрата в среде 2—4%. У всех грибов содержание протеина в конечных биомассах уменьшалось с повышением концентрации субстрата. Однако, учитывая, что содержание протеина в исходном субстрате составляет 5,8%, общий выход протеина в биомассах, например для *L. ti-*

grinus ИБР-101, увеличивается повышением концентрации субстрата и составляет 268, 496 и 605 мг. Наивысшей внеклеточной лакказной активностью также обладала культура *L. tigrinus* ИБР-101. Микроорганизмы, относящиеся к роду *Pleurotus*, отличались пониженной лакказной активностью. У всех грибов повышение концентрации цитрусового субстрата стимулировало продукцию внеклеточной лакказы. Мы предполагаем, что эта стимуляция является результатом увеличения концентрации свободных сахаров, а также фенольных соединений, экстрагируемых из субстрата в процессе стерилизации питательных сред. Роль этих веществ в биосинтезе лакказы интенсивно изучается [4—6]. Нами установлено, что содержание редуцирующих сахаров, например в средах, содержащих 4% цитрусового субстрата, достигает 0,7 %.

КМЦазная активность испытанных штаммов базидиомицетов невысока (например, по сравнению с микромицетами). В культуре наиболее актив-

питательной среде. Однако в отделе культуры КМЦазы отмечается обратная закономерность, а именно; в средах с высокой концентрацией цитрусового

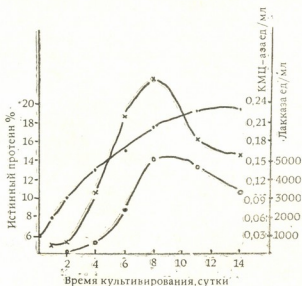


Рис. 1. Динамика роста и накопления лакказной и КМЦ-азной активностей при глубинном культивировании *h. tigrinus* ИБР-101

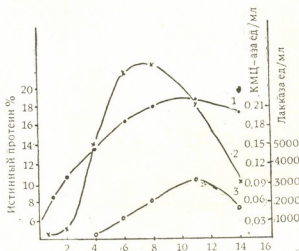


Рис. 2. Динамика роста и накопления лакказной и КМЦ-азной активностей при глубинном культивировании *P. tigrinus* 0789

ного штамма *P. osreatus* ИБК-105 она достигает лишь 0,45 ед./мл. Величина активности и этого фермента зависит от концентрации субстрата в

субстрата уровень ферментативной активности грибов снижался, вероятно, из-за катаболитной репрессии.

На рис. 1, 2 представлены динами-



კი რისტი და ბიოსინთეზა ფერმენტოვდუ-
 მუ კულტურამი ბაზიდიამიცეტოვ —
Leintinus tigrinus იბრ-101 და *Panus*
tigrinus 0789 — პრი იხ გლუბინომ
 კულტივიროვანი ვ სრედახ, სოდეჩა-
 შიხ 4% ციტრუსოვო სუბსტრატა. ობე
 კულტურე ნაკაჟლიაუთ ვ ბიოსმასე დო
 19% ისტინიოვო პროტეინა ვ სტაციონარ-
 ნოვ ფაზე რისტი, ოდნაკო პერვაი იზნიხ
 დოსტიგაე იე ლიში ნა 11—14 სუტიკი,
 თოგა კაკ ვტორაი — ძერეხ 8—11 სუტიკ
 კულტივიროვანი. ვ თო ჟე ვრემა მაქ-
 სიმუმ ლაკკაზნოვ აქტივნიტი — 5063
ედ/მლ დოსტიგაეა ვ კულტურე *L. tigri-*
pinus იბრ-191 რანშიე — ნა 8-ე სუტიკ
 რისტი, თოგა კაკ ვ კულტურე
P. tigrinus 0789 — ნა 11 სუტიკი.

კმცაზნაი აქტივნიტი ობეიხ კულტურ-
 ტოვ დოსტიგაე სოვოეო მაქსიმუმოვ
 6—8 სუტიკი რისტი რიბოვ, ა ზათეხ
 რეკო სნიჟაეა. ნადო ომეტიტი ტაკ-
 ჟე თო ფაქტი, ძო ვ ობეიხ კულტურაჲ
 ლაკკაზნაი და კმცაზნაი აქტივნიტი
 ოტსუტვუთ ილი ოძენი ნიჟკი ვ ტე-
 ჩენი პერვიხ დუიხ სუტიკოვ რისტი. ვ ო-
 ტნოშენი კმცაზნაი ნაიბოლე ვეროიტი
 პრიძინოი ნიჟკოვ აქტივნიტი მოჟე
 ბიტი ვისოკოე სოდეჩანი სუაოროვ
 ვ პიტიატელნოვ სრედე. ძო კასაეა ლაკ-
 კაზი, თო, ვოზმოჟო, პოაჟენიე იტო
 ფერმენტა ვ სრედე სუაოროვ ნე თოლკო
 ს იეო სეკრეციეი აქტივნი რასუთელ
 კულტურეი, ნო ი ლიზისო მიცელია პრი
 პერეჲოდე კულტურეი კ სტაციონარნოვ
 ფაზე რისტი.

ლიტერატურა

1. ელისაშვილი ვ. ი., ბეგაშვილი მ. გ., კაჩლიშვილი ე. ტ., კვესიტაძე გ. ი. ვ კი.: პრეჟრანიე დრე-
 ვესინი პრი ენიზმატიკესომ და მიკრობიო-
 ლოგიკესომ ვოდეიქტივნიეჲ, რიგა, 1980,
 116—122.
2. Ander P., Eriksson K. E. *Biotechnol.*
Appl. Biochem., 9, 160—169, 1987.
3. Ghose T. K. *Pure Appl. Chem.*, 59, 253—
 268, 1987.
4. Elisashvili V., Begashvili M.,
 Kachlishvili E., Kiknadze M., Za-
 kariashvili N., Kvesitadze G. In:
 Finnish-Soviet Seminar on bioconversion of
 plant raw materials by microorganism, Push-
 chino, 1989, 125—134.
5. Aroga D. S., Sandhu D. K. *Enzyme*
Microb. Technol., 7, 405—408, 1985.
6. Müller H. W., Trösch W., Kulbe
 K. D. *FEMS Microbiol., Lett.*, 19, 187 —
 193, 1988.

უმალღესი ბაზიოლოგიკეტივნიე ლაკკაზური და კმ-ცილღესლაზური
 აქტივნიტი ვეღარეტიტი ვესწავლა

ბ. ლონტი, ვ. ელისაშვილი

საქართველოვ მეცნიერებათა აკადემიის მეცნარეთა ბიოქიმიის ინსტიტუტი, თბილისი

რეზიუმე

შესწავლილ იქნა უმალღესი ბაზიოლო-
 გიკეტივნიე 5 შტამის ზრდა და ლაკაზური
 და კმცაზური აქტიობა სიღრმული კულ-
 ტივირებისას. საკეეხ არეში სუბსტრატად
 აღებული იყო ციტრუსის ნარჩენი. ვამო-
 კლეული სოკოეხი ზრდის სტაციონარულ
 ფაზას აღწევდენ კულტივირების დაწყე-

ბიდან მე-11 დღეს, ჰეშმარტი ცილის
 შემცველობა 18—19%-ს უტოლდებოდა.
 ციტრუსის სუბსტრატის კონცენტრაციის
 ზრდა 2-დან 4—6%-მღე იწვეედა სოკო-
 ების ლაკაზური აქტიობის ზრდას, ხოლო
 კმცაზურის კლეხას.

COMPARATIVE INVESTIGATION OF LACCASE AND CM-CELLULASE ACTIVITIES IN HIGHER BASIDIOMYCETES



N. GLONTY, V. ELISASHVILI

Institute of Plant Biochemistry, Georgian Academy of Sciences, Tbilisi

Summary

The growth of five higher basidiomycetes strains and biosynthesis of laccase and CMCase during submerged cultivation in presence of citrus wastes were investigated. It was demonstrated that fungi received stationary phase of growth in 11 days of cultivation rea-

ching biomass by real protein up to 18—19%.

With increase of citrus substrate concentration from 2 to 4—6% laccase activity was increased and CMCase activity was decreased.

УДК 577.21 : 577.15

БИОХИМИЯ

ИЗУЧЕНИЕ РОЛИ ЯДЕРНОГО МАТРИКСА В РЕПАРАЦИИ ДНК НЕРВНОЙ КЛЕТКИ

Т. М. Заалишвили, Н. Ш. Джәпаридзе, В. Л. Анчабәдзе

Институт молекулярной биологии и биологической физики АН Грузии, Тбилиси

Рентгеновское облучение крыс вызывает перераспределение ядерной ДНК-полимеразы β клеток головного мозга из нематриксных областей в матрикс и заметное увеличение активности ассоциированной с матриксом ДНК-полимеразы.

Полученные данные указывают на вовлечение ядерного матрикса нервных клеток в репарацию ДНК.

Ядерный матрикс, являющийся скелетной структурой ядра, состоит главным образом из негистоновых белков. Ядерный матрикс можно получить экстракцией клеточного ядра 2M NaCl в комбинации с обработкой нуклеазами. Изолированный ядерный матрикс сохраняет форму ядра клетки. Исследования последних лет убедительно указывают, что ядерный матрикс является функционально активной структурой, принимающей участие в кардинальных процессах, протекающих на уровне генома эукариотической клетки. С ним связаны репликация и транскрипция ДНК, процессинг и транспорт РНП [1, 2]. Не исключено, что с ядерным матриксом связан также репаративный синтез ДНК [7, 8], хотя данные в этом аспекте весьма скудные. Одним из путей для выявления функциональной значимости ядерного матрикса в клетке является идентификация ферментов, ассоциированных с матриксом, и уровня их активности при различных физиологических состояниях клетки.

Исходя из вышесказанного, а также из того, что нервная клетка в этом направлении практически не изучена, целью настоящей работы является определение активности репаративного фермента ДНК-полимеразы β в ядерном матриксе интактных и облученных рентгеновскими лучами крыс.

В опытах использовали белых крыс весом 140—150 г. Облучение животных проводили с помощью рентгеновской установки РУМ-17 [3]. Крыс декапитировали через 12 ч после облучения. Ядра из цельного головного мозга крыс и ядерный матрикс получали по методикам, описанным в работе [4]. Эндогенную ДНК-полимеразную активность в ядрах и в ядерных матриксах определяли в условиях, описанных нами ранее [5]. ДНК тимуса теленка активировали по методу Апошан и Корнберг [9]. Концентрацию белка определяли по модифицированному методу Лоури и др. [10] и по Бредфорду [11], а ДНК по Бартону [6].

Как видно из табл. 1, в ядрах как интактных, так и облученных крыс ДНК-полимеразная активность гораздо выше, чем в ядерных матриксах. Однако надо заметить, что после облучения животных в дозе 4,2 Гр ДНК-полимеразная активность, ассоциированная с ядерным матриксом, заметно увеличивается. Классический ингибитор активности ДНК-полимеразных афидиколин в нашем случае никакого влияния не оказывал как на ядерную, так и на матриксную ДНК-полимеразную активность, что согласуется с литературными данными, поскольку установлено, что в ядрах головного мозга крыс содержится в основном ДНК-полимераза β , являющаяся репарирующим ферментом [12].

Таблица

Влияние рентгеновского облучения крыс на ДНК-полимеразную активность ядер и ядерного матрикса клеток головного мозга крыс

Клеточная структура	Включение ^3H -dTМФ, пмоль на мг белка	
	необлученные крысы	облученные в дозе 4,2 гр крысы
Ядра	4,2	6,0
Ядерные матриксы	5,1	10,7

Ядерные матриксы содержали 5,1 — 5,3% ядерного белка и 2,6—3% ядерной ДНК

ЛИТЕРАТУРА

1. Збарский И. Б. Организация клеточного ядра (под ред. Ченцова Ю. С.), «Медицина», М., 1988.
2. Глазков М. В. Молекулярная биология, 22, 2, 303—322, 1988.
3. Заалишвили Т. М., Джапаридзе Н. Ш., Мичилашвили Р. Д., Маргиани Д. О. Радиобиология, 30, 1, 36—39, 1990.
4. Заалишвили Т. М., Джапаридзе Н. Ш., Мичилашвили Р. Д., Анчабадзе В. Л. Биохимия, 54, 4, 537—541, 1989.
5. Заалишвили Т. М., Джапаридзе Н. Ш., Мичилашвили Р. Д., Заалишвили М. М. ДАН СССР, 309, 3, 737—740, 1989.
6. Георгиев Г. П., Химия и биохимия

Аналогичная картина наблюдалась и при внесении в инкубационную среду для определения ДНК-полимеразной активности активированной ДНК (15 мкг/мл и 30 мкг/мл).

Итак, мы имеем дело с перераспределением ДНК-полимеразы β из вне-матриксной области ядра в матриксную область индуцированных рентгеновским облучением крыс.

В целом, исходя из полученных данных, можно заключить, что ядерный матрикс вовлечен в непланово-репарационный синтез ДНК нервных клеток.

- нуклеиновых кислот (под ред. Збарского И. Б., Дебовой С. С.). «Медицина», Л., 1968, 74—120.
7. McCready S. J., Cook P. R. J. Cell Sci., 79, 1, 189—196, 1984.
8. Mullenders A. H. F., Kesteren A. C. van Bussmann G. J. M., Zeeland A. A. van Natarajan A. T. Mutation res., 141, 1, 75—82, 1984.
9. Aposhian H. V., Kornberg A. J. J. Biol. Chem., 237, 2, 519—525, 1962.
10. Markwell M. K., Haas S. M., Bieber L. L., Tolbert N. E. Anal. Biochem., 87, 1, 206—210, 1978.
11. Bradford M. M. Anal. Biochem., 72, 1—2, 248—254, 1976.
12. Kuenzle C. Brain Res. Rev., 10, 1, 231—245, 1985.

ბირთვული მატრიქსის როლის შესწავლა ნერვული უჯრედების დნმ-ის რეპარაციაში

თ. ზაალიშვილი, ნ. ჯაფარიძე, ვ. ანჩაბაძე

საქართველოს მეცნიერებათა აკადემიის მოლეკულური ბიოლოგიისა და ბიოლოგიური ფიზიკის ინსტიტუტი, თბილისი

რ ე ზ ი უ მ ე

ნაჩვენებია, რომ ვირთავების რენტგენის სხივებით დასხივება იწვევს თავის ტვინის უჯრედების ბირთვული დნმ-პოლიმერაზა β -ს გადანაწილებას ბირთვების არა მატრიქსული უბნებიდან მატრიქსში

და მატრიქსთან ასოცირებული დნმ-პოლიმერაზული აქტივობის ზრდას.

მიღებული მონაცემები მიგვანიშნებენ, რომ ნერვულ უჯრედებში ბირთვული მატრიქსი მონაწილეობს დნმ-ის რეპარაციაში.

STUDY OF THE ROLE OF NUCLEAR MATRIX OF NERVE CELLS IN
DNA REPARATION



T. ZAALISHVILI, N. JAPARIDZE, V. ANCHABADZE

Institute of Molecular Biology and Biological Physics, Georgian Academy of
Sciences, Tbilisi

S u m m a r y

X-Irradiation of rats was shown to induce redistribution of nuclear DNA-polymerase β in the nerve cell nuclei from the non-matrix regions to the matrix and enhancement of the DNA-po-

lymerase activity associated with nuclear matrix.

The foregoing indicates the involvement of the nerve cell nuclear matrix in DNA reparation.

УДК 612.015:618.3

БИОХИМИЯ

ГЕНЕЗ ГИПОКАЛЬЦИЕМИИ ПРИ ЕРН-ГЕСТОЗЕ

А. Р. Чхеидзе, В. В. Абрамченко, В. В. Соколовский, Е. В. Костюшов,
В. Н. Моисеев, И. М. Бетоева, Л. М. Хелашвили

*Тбилисский государственный медицинский институт
Институт акушерства и гинекологии АМН СССР, Санкт-Петербург*

Поступила в редакцию 13.06.90

Изучались показатели аскорбатной и тиол-дисульфидной окислительно-восстановительной систем и кальциевого обмена. Было выявлено пропорциональное тяжести позднего гестоза угнетение редуцированных форм, увеличение окисленных форм, уменьшение уровня кальция в плазме крови и увеличение концентрации оксалатов в моче женщин. Предполагается, что дефицит кальция в крови больных связан, с одной стороны, с увеличением концентрации продуктов распада дикетоглуконовой кислоты (щавелевой кислоты), а с другой, с нарушением процесса оксалирования из-за угнетения тиоловых ферментов.

Общезвестно, что поддержание кальциевого гомеостаза является одним из важнейших условий нормального функционирования жизненно важных органов и систем.

С этой точки зрения трудно переоценить значение гипокальциемии в возникновении целого каскада нефизиологических реакций в системе мать—плацента—плод во время беременности, осложненной поздним гестозом. Вместе с тем вопрос о молекулярных механизмах, лежащих в основе дефицита кальция, при рассматриваемой патологии до сих пор остается открытым.

МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Комплексному клиническому обследованию с использованием современных клиничко-физиологических и биохимических методов подверглись 228 женщин в возрасте от 18 до 40 лет, которых распределили следующим образом: В I-ю группу вошли женщины с физиологически протекающей беременностью при сроке 38—40 недель, в том числе и в начале нормальных родов (всего 38 человек). Указанная

В этой связи значительный интерес представляют экспериментальные данные о зависимости кальциевого обмена от состояния окислительно-восстановительного гомеостаза и, прежде всего, тиол-дисульфидной и аскорбатной систем организма [4, 5, 6].

Основанием для настоящей работы послужило отсутствие в литературе сведений о роли тиол-дисульфидной и аскорбатной окислительно-восстановительных систем в молекулярных механизмах генеза гипокальциемии при позднем гестозе.

группа была взята в качестве контроля. Последующие четыре группы (170) составили женщины с беременностью 32—40 недель, осложненной поздним гестозом, распределенные на основании клинических признаков заболевания по формам и степени тяжести, согласно принятой классификации: 2-я группа — Е-гестоз (80), 3-я — ЕРН-гестоз первой степени (66), 4-я —

ЕРН-гестоз второй степени (26), 5-я — ЕРН-гестоз третьей степени (18).

У всех обследуемых определялось содержание оксалатов в моче, проводилось биохимическое исследование крови с целью изучения состояния тиол-дисульфидной системы, аскорбатной окислительно-восстановительной системы и кальциевого гомеостаза.

В работе использованы методы прямого и обратного амперометрического титрования сульфгидрильных (SH) и дисульфидных (SS) групп, раздельного определения редуцированной формы аскорбиновой кислоты (АК) и ее окисленных форм — дегидроаскорбиновой (ДАК) и diketог-

лоновой (ДКГК) кислот [2, 3]. Концентрация кальция в плазме крови определялась методом плазменной фотометрии. О наличии оксалатов судили на основании данных микроскопического осадка мочи. Получены также данные о содержании стероидных гормонов в сыворотке крови женщин контрольной группы с использованием радиоиммунологического метода с применением стандартных наборов КИТ фирмы «CEA—IRE—SORIN». Результаты исследований были подвергнуты математической обработке методами вариационной статистики [1].

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

Анализ полученных данных (табл. 1 и 2) показал, что развитие позднего гестоза сопровождается глубокими нарушениями состояния окислитель-

но-восстановительного равновесия в тиол-дисульфидной и аскорбатной системах плазмы крови беременных (по сравнению с контролем). Эти нару-

Таблица 1

Биохимические показатели плазмы крови больных гестозом

Показатели	Группы обследованных				
	Здоровые (беременные)	Отеки беременных, Е-гестоз	ЕРН-гестоз		
			1 ст.	2 ст.	3 ст.
SH-группы (мкм/л)	504,2±8,21	384,5±6,18*	292,3±7,33*	241,5±8,21*	154,4±9,54
SS-группы (мкм/л)	173,4±3,99	211,7±7,12*	254,8±9,42*	286,9±10,12*	336,8±12,21*
SH/SS (коэфф.)	2,91±0,018	1,82±0,015	1,15±0,030*	0,85±0,039*	0,45±0,042*
АК (коэфф./л)	39,74±3,61	34,07±1,48*	24,98±1,82*	16,47±2,84*	9,08±2,66*
ДАК (мкм/л)	19,32±1,02	22,71±1,59*	27,82±2,48*	30,76±5,58*	43,72±2,83*
ДКГК (мкм/л)	17,82±1,22	34,63±1,48*	38,04±2,28*	42,02±2,34*	50,53±2,54*
ОФ/ДАК+ДКГК	47,12±2,28	57,34±2,51*	65,86±4,66*	77,78±4,47*	94,25±0,06*
АК/ОФ (коэфф.)	0,86±0,12	0,06±0,64*	0,38±0,38*	0,21±0,06*	0,096±0,03*
Са ⁺⁺ (ммоль/л)	2,56±0,21	2,01±0,17*	1,88±0,15*	1,54±0,24*	1,12±0,26*

* — показатель статистически достоверно отличается от своего значения в контрольной группе (P<0.05)

Таблица 2

Выраженность оксалурии в моче больных гестозом

Группа обследованных	Содержание оксалатов в моче						Итого	
	незначит.ное		умеренное		выраженное			
	число	%	число	%	число	%	число	%
Е-Гестоз, отеки беременных	45	26,47	25	14,71	—	—	75	41,18
ЕРН-гестоз I ст.	9	5,29	44	25,88	3	1,76	56	32,94
ЕРН-гестоз II ст.	—	—	16	9,41	10	5,88	26	15,29
ЕРН-гестоз III ст.	—	—	3	1,77	15	8,82	18	10,59
Всего	54	31,76	88	51,77	28	16,47	170	100

шения характеризуются уменьшением содержания редуцированных форм (SH-групп и АК) указанных систем и увеличением концентрации их окисленных производных (SS-групп и ДАК+ДКГК), что наиболее наглядно проявляется в уменьшении величин коэффициентов SH/SS и АК/ОФ. Наряду с этим обнаружен дефицит кальция в плазме крови и увеличение оксалатов в моче беременных с гестозом. Причем в ходе проведенных исследований установлена прямая зависимость тяжести клинического течения патологии и степени выраженности указанных нарушений. Особо необходимо акцентировать внимание на том, что интенсивность сдвигов окислительно-восстановительного равнове-

чия при сравнении показателей 40-недельной беременности и во время начала родов. Так, эстриол соответственно составлял $264,7 \pm 35,7$ и $205,1 \pm 23,3$ мкг/мл, эстрадиол $26,93 \pm 3,16$ и $18,16 \pm 2,8$ мкг/мл, содержание прогестерона незначительно уменьшалось с $179,83 \pm 18,25$ до $102,63 \pm 7,53$ мкг/мл ($P < 0,05$), концентрация ионов кальция оставалась стабильной — $2,46 \pm 0,08$ и $2,26 \pm 0,04$ ммоль/л.

В свете этих данных возможные причины гипокальциемии при позднем гестозе могут состоять в следующем.

Во-первых, окисление редуцированной формы аскорбиновой кислоты приводит к накоплению ее окисленных производных — ДАК и ДКГК кислот. Последняя (ДКГК), как из-

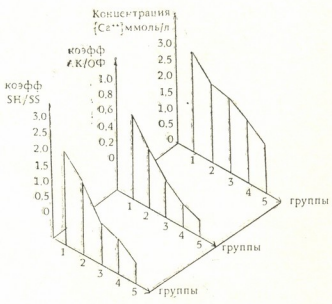


Рис. 1. Корреляция интенсивности сдвигов окислительно-восстановительного равновесия в тиол-дисульфидной и аскорбатной системах с выраженностью гипокальциемии в плазме крови беременных: 1 — женщины с физиологически протекающей беременностью (контроль); 2 — отеки беременных, Е-гестоз; 3 — ЕРН-гестоз I степени; 4 — ЕРН-гестоз II степени; 5 — ЕРН-гестоз III степени

весия в тиол-дисульфидной и аскорбатной системах, в свою очередь, коррелировала с выраженностью гипокальциемии в плазме крови беременных, страдающих гестозом, и оксалатурии (рис. 1).

Необходимо отметить, что в контрольной группе не удалось выявить статистически достоверных изменений со стороны содержания стероидных гормонов и концентрации ионов каль-

вестно, являясь необратимо окисленной формой АК, в свою очередь, расщепляется на щавелевую и треоновую кислоты [4, 5, 6, 7]; появление высоких концентраций щавелевой кислоты в различных средах организма при усилении процессов окисления АК обнаружил ряд исследователей [4, 5, 6, 7]. Исходя из этого, представляется, что биологический эффект ДКГК обусловлен появлением в организме боль-

ных одного из продуктов ее расщепления — значительного количества щавелевой кислоты; которая, взаимодействуя с ионами кальция плазмы крови, образует оксалаты, частично выводящиеся с мочой, вследствие чего происходит потеря кальция организмом.

В пользу этого заключения свидетельствуют данные нашей работы. В частности, в результате проведенных исследований была обнаружена корреляционная зависимость между увеличением содержания ДКГК в плазме крови больных, с одной стороны, и уменьшением уровня кальция в

рушения оксалирования обусловлены снижением активности ряда тиоловых ферментов — оксалат-декарбоксилазы (4.1.1.2), оксалат-оксидазы (1.2.3.4), оксалат-КоА-лигазы (6.2.1.8), оксалат-КоА-трансферазы (2.8.3.2)*. Активность тиоферментов, как известно, определяется состоянием тиол-дисульфидной системы организма, сдвиг которой в сторону окисления приводит к их инактивации. Отсюда есть все основания полагать, что нарушениями окислительно-восстановительного равновесия в тиол-дисульфидной и аскорбатной системах, обнаруженными нами при позднем гестозе, может быть обусловлено снижение активности тио-

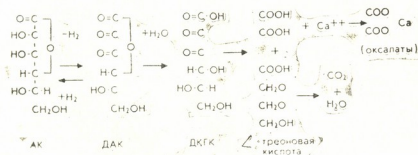


Рис. 2. Механизм образования оксалатов в плазме крови больных гестозом

плазме крови и увеличением концентрации оксалатов в моче больных, с другой. Правомерность высказанного предположения подтверждается результатами исследований ряда авторов, выявивших увеличение концентрации оксалатов в моче при введении в организм АК в больших количествах на фоне повышенной оксидантной активности [4, 5, 6].

Во-вторых, известно, что появление оксалатов в организме может быть непосредственно связано с нарушениями процессов их оксалирования (распада). В то же время механизмы на-

ловых ферментов, принимающих участие в процессах оксалирования. В этих условиях возможность образования и отсутствия оксалатов в организме беременной при гестозе становится еще более вероятной.

Естественно, предлагаемая концепция не исчерпывает всей сложности возможного механизма гипокальциемии при позднем гестозе. Тем не менее, развивающиеся при данной патологии нарушения окислительно-восстановительного равновесия играют важную роль в генезе гипокальциемических состояний.

ЛИТЕРАТУРА

1. Беленький М. Л. Элементы количественной оценки фармакологического эффекта, Медгиз, Л., 1963.

2. Соколовский В. В., Лебедева Л. В., Лизлуп Т. Б. Лаб. дело, 3, 160—162, 1974.

* По международной номенклатуре ферментов (АН СССР, ИНИ, М., 1979).



3. Соколовский В. В., Белозерова Л. А., Огурцова Р. Е. Лаб. дело, 1, 26—27, 1977.
 4. Мусил Я. Основы биохимии патологических процессов. «Медицина», М., 1985.
 5. Du Bruyn D., De Klerk W., Lien-

benberg N. S. Afr. Med. J. 52, 861—862, 1977.
 6. Gambardella R., Richardson R., Biochim. biophys. Acta. 499, 1, 156 — 168, 1977.
 7. Warnick A., Lynch S., Krawitz P. Brit. Med. J., 5620, 701—707, 1968.

ვიკოკალციემიის გენეზი EPH-გესტოზის დროს

ა. ჩხეიძე, ვ. აბრამჩენკო, ვ. სოკოლოვსკი, ე. კოსტიუშოვი, ვ. მოიხაივი, ი. ბებოვა, ლ. ხელაშვილი

თბილისის სახელმწიფო სამედიცინო ინსტიტუტი
 სსკ მედიცინის მეცნიერებათა აკადემიის მეანობის და გინეკოლოგიის ინსტიტუტი,
 სანკტ-პეტერბურგი

რ ე ზ ი ე მ ე

შესწავლილ იქნა ფიზიოლოგიურად მიმდინარე ორსულობისა და სხვადასხვა სიმძიმის ხარისხის EPH-გესტოზის დროს ფეხმძიმე ქალებში ჟანგვა-აღდგენითი სისტემის მდგომარეობა, ასკორბატის, თიოლ-დისულფიდის და კალციუმის ცვლა. გამოვლინდა EPH-გესტოზის სიმძიმის ხარისხის პროპორციულად რედუცირებული ფორმების დახშობა, დაქანებული ფორმების მომატება, სისხლის პლაზმაში

კალციუმის დონის შემცირება და შარდში ოქსალატების კონცენტრაციის მომატება. სავარაუდოა EPH-გესტოზის დროს ორსული ქალის სისხლში კალციუმის დეფიციტის დაკავშირება, ერთის მხრივ დიეტოგულონის მეჯვის დაშლის პროდუქტების კონცენტრაციის მომატებასთან, ხოლო მეორეს მხრივ ოქსალირების პროცესის დარღვევასთან, თიოლური ფერმენტების დახშობის გამო.

HYPOCALCEMIA GENESIS IN EPH-GESTOSIS

A. CHKHEIDZE, V. ABRAMCHENKO, V. SOKOLOVSKY, E. KOSTIUSHOV, L. MOISEEV, J. BETOEVA, L. KHELASHVILI

Tbilisi state Medical Institute
 Obstetrics and Gynecology Institute the USSR
 Academy of Medical Sciences, Sanct - Peterburg

S u m m a r y

We studied the indices of oxidative—reductive ascorbat system, thiol-disulfide and calcium exchange. A depression of reduced forms, an increase in oxidated forms, a decrease in calcium level in blood plasma and an increase in oxalate concentration in women's urine were revealed in proportionality to the severity of EPH—gestosis. It is

supposed that calcium deficiency in patients' blood is connected with the increase in the concentration of dissociation products of dyketogulonic acid (oxalic acid) and, on the other hand, with the disturbance of oxalation process due to depression of thiol enzymes.

УДК 581.132.1

ФИЗИОЛОГИЯ РАСТЕНИЙ

ВЛИЯНИЕ ФУЗИКОКЦИНА НА ФОТОХИМИЧЕСКУЮ АКТИВНОСТЬ ХЛОРОПЛАСТОВ ПШЕНИЦЫ

Г. Ш. Аденшвили, Г. Г. Симонян, Д. Д. Каландадзе, Г. С. Каличава,
Л. М. Краснопольская

*Региональный филиал Всесоюзного научно-исследовательского института
сельскохозяйственной биотехнологии, Тбилиси*

*Всесоюзный научно-исследовательский институт сельскохозяйственной биотехнологии,
Москва*

Поступила в редакцию 01.02.90

Изучали действие фузикококцина на функционирование электрон-транспортной цепи и кислородвыделяющего комплекса. С помощью ЭПР-спектроскопии и полярографического метода удалось показать, что даже при высоких концентрациях фузикококцина ($1 \cdot 10^{-4}$ М) не происходит нарушения работы как электрон-транспортной цепи, так и кислородвыделяющего комплекса.

В настоящее время известно большое число химических соединений, способных активно воздействовать на морфологические и физиологические процессы в высших растениях. Одним из таких соединений является фузикококцин, выделенный из мицелий гриба *Fusicoccum amygdaly* [3].

В данной работе предпринята попытка определения пороговых значений концентрации фузикококцина по действию на активность фотосинтетического аппарата пшеницы.

Быть может фузикококцин, как и многие регуляторы роста, способен проявлять концентрационный эффект.

МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ

Основным объектом исследования служили хлоропласты класса Б, выделенные из 10—12-дневных проростков пшеницы сорта Омская-9 по методике, предложенной в работе [7]. Среда выделения содержала: 0,4 М сахарозы, 0,05 М *Нерес* (рН 7,6), 0,01 М *NaCl*, 0,002 М *MgCl₂*.

Концентрацию хлорофилла в полученной суспензии хлоропластов опре-

Положительное действие этого препарата на метаболические процессы в высших растениях наблюдается при концентрациях $1 \cdot 10^{-7}$ — $1 \cdot 10^{-9}$ М [5]. Возможно, при более высоких концентрациях проявляется токсическое действие фузикококцина.

Нами изучались реакции световой стадии фотосинтеза в присутствии фузикококцина *in vitro*. Было исследовано влияние фузикококцина на перенос электронов по электрон-транспортной цепи тилакоидной мембраны и на работу кислородвыделяющего комплекса хлоропластов пшеницы.

деляли спектрофотометрически по Арнону [1].

Фузикококцин был получен в лаборатории регуляторов роста по методике, описанной в работе [5].

Поскольку фузикококцин первоначально растворяли в спирте, а затем в воде, то в качестве контроля использовали суспензию хлоропластов с добавлением спирта в концентраци-



ях, применяемых при растворении фузикококцина.

Суспензию хлоропластов инкубировали с различными концентрациями фузикококцина ($1 \cdot 10^{-3}$ — $1 \cdot 10^{-4}$ М) при постоянном содержании хлорофилла (1 мг Хл/мл), в темноте, в течение 30 мин при 0° .

Спектр ЭПР регистрировали на радиоспектрометре Tomson CSF TSN 254 3-сантиметрового диапазона, спектры записывали при комнатной температуре. Условия записи спектров следующие: центральное поле H_0 — 3350 Гс , амплитуда модуляции— 4 Гс , мощность СВЧ— 10 мВ , постоянная времени— $0,5 \text{ с}$. В качестве эталона сравнения использовали ионы марганца в кристаллической решетке MgO . Запись спектров проводили после 5-минутной инкубации суспензии хлоропластов в резонаторе спектрометра в темноте, затем суспензию освещали светом с длиной волны $\lambda \sim 707 \text{ нм}$ ($\Delta\lambda \approx 5 \text{ нм}$) и импульсом белого света длительностью 750 мкс .

В качестве искусственного акцептора электронов использовали метил-

виологен ($2 \cdot 10^{-5}$ М). При добавлении метилвиологена электронный перенос от P700 к акцепторам перестает быть лимитирующей стадией. Данная концентрация метилвиологена и условия записи спектров ЭПР исключали регистрацию его собственных спектров. Для кинетических изменений светоиндуцированного сигнала ЭПР магнитное поле фиксировали на низкопольном пику производной сигнала ЭПР I.

Выделение кислорода хлоропластами при стационарном освещении определяли полярографическим методом. Реакционная среда содержала (в мМ): 50 NaCl , 2 MgCl_2 , 1 Hepes (рН 7,8), $2 \text{ K}_3\text{Fe}(\text{CN})_6$; хлоропласты ($0,1 \text{ мг Хл/мл}$). Скорость выделения кислорода рассчитывали по тангенсу угла наклона кривой выделения кислорода.

Проводился функциональный контроль, который оценивали по светоиндуцированному градиенту рН, образованного хлоропластами. Этот градиент снимался известными разбавителями фосфорилирования $2 \cdot 10^{-6} \text{ М СССР}$ и $1 \cdot 10^{-2} \text{ М NH}_4\text{Cl}$.

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

Механизм действия фузикококцина на биохимические процессы, протекающие в клетке, до сегодняшнего дня остается открытым [4]. Предположение о том, что фузикококцин, проникая через плазматическую мембрану непосредственно воздействует на метаболизм клетки, дает основание изучать действие фузикококцина на реакции световой стадии фотосинтеза, протекающие на тилакоидной мембране. Поскольку фузикококцин способен проникать через плазматическую мембрану, то его влияние на функционирование электрон-транспортной цепи и кислородвыделяющего комплекса изучали путем инкубации суспензии хлоропластов класса Б с различными концентрациями фузикококцина.

За функционированием электрон-транспортной цепи следили по окислительно-восстановительным превращениям реакционного центра фотосистемы I—пигмента P700 . В настоящее время общепризнано, что за сигнал ЭПР I, возникающий при освещении светом $\lambda \sim 707 \text{ нм}$, ответственна окисленная форма пигмента P700^+ . Сигнал ЭПР I представляет собой

синглет с $g=2,0023$ и $\Delta H=7,5 \text{ Гс}$. Этот сигнал имеет максимальную величину при $\lambda \sim 707 \text{ нм}$ при интенсивности $1,5 \cdot 10^{15} \text{ квант/см}^2\text{с}$ [2]. Стационарная концентрация P700^+ определяется соотношением между скоростью окисления пигмента за счет фотосистемы I и скоростью его восстановления за счет фотосистемы II, что позволяет по величине сигнала ЭПР I следить за функциональным состоянием электрон-транспортной цепи тилакоидной мембраны. При достижении стационарного значения величины сигнала ЭПР I, на фоне света $\lambda \sim 707 \text{ нм}$, подачей импульса белого света, происходит приток электронов от фотосистемы II, восстанавливающих P700^+ (рис. 1). При этом интенсивность сигнала снижается на некоторую величину. Длительность импульса 750 мкс достаточна для достоверного переноса электронов от фотосистемы II. Таким образом, по кинетике светоиндуцированных изменений величины сигнала ЭПР I при хроматических переходах: темнота—свет— 707 нм —вспышка белого света—свет

$\lambda \sim 707 \text{ нм}$ — темнота можно судить о состоянии электрон-транспортной цепи на участке между двумя фотосистемами [6].

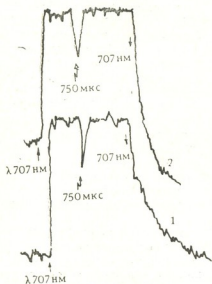


Рис. 1. Кинетика светоиндуцированных изменений величины сигнала ЭП I в хлоропластах класса Б при хроматических переходах: темнота — свет $\lambda \sim 707 \text{ нм}$ — вспышка белого света — свет $\lambda \sim 707 \text{ нм}$ — темнота в присутствии 20 мМ метилвиолена: 1 — контрольные хлоропласты; 2 — хлоропласты, инкубированные с фузикокином ($1 \cdot 10^{-4} \text{ М}$)

После инкубации суспензии хлоропластов с различными концентрация-

ми фузикокиина, начиная с $1 \cdot 10^{-7} \text{ М}$ до $1 \cdot 10^{-4} \text{ М}$, мы наблюдали такую же кинетику изменений величины сигнала ЭП I при хроматических переходах, как у контрольных хлоропластов. При освещении светом $\lambda \sim 707 \text{ нм}$ происходит одинаковое увеличение величины сигнала ЭП I, а импульс белого света изменяет интенсивность сигнала ЭП I на такую же величину, как в контрольных и инкубированных с фузикокином хлоропластов (рис. 1). Поскольку величина сигнала ЭП I не изменяется по сравнению с контролем, то фузикокин не акцептирует электроны от пигмента P700 и не ингибирует поток электронов к P700⁺, что подтверждается одинаковыми изменениями величины сигнала ЭП I при вспышке белого света. Следовательно, даже при высоких концентрациях фузикокиина ($1 \cdot 10^{-4} \text{ М}$) перенос электронов по электрон-транспортной цепи не нарушается.

Для подтверждения того, что фузикокин при высоких концентрациях ($1 \cdot 10^{-4} \text{ М}$) не изменяет реакций световой стадии фотосинтеза, нами были проведены опыты, позволяющие следить за функционированием кислородвыделяющего комплекса. Изме-

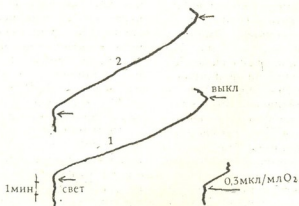


Рис. 2. Выделение кислорода хлоропластами при стационарном освещении в присутствии феррицианида (2 мМ): 1 — контрольные хлоропласты; 2 — хлоропласты, инкубированные с фузикокином ($1 \cdot 10^{-4} \text{ М}$)

სტო, что выделение кислорода высшими растениями связано со световой стадией фотосинтеза, а именно с функционированием кислородвыделяющего комплекса, расположенного на тилакоидной мембране. Этот комплекс представляет собой сложную ферментную систему, которую можно нарушить многими экзогенными факторами. Выделение кислорода хлоропластами зависит от функционального состояния как самого кислородвыделяющего комплекса, так и от функционирования всей электронотранспортной цепи.

За работой кислородвыделяющего комплекса следили по скорости выделения кислорода хлоропластами при стационарном освещении в условиях

функционирования двух фотосистем. В качестве акцептора электронов использовали феррицианид.

Как видно из рис. 2, инкубация суспензии хлоропластов с высокой концентрацией фузикокина ($1 \cdot 10^{-4}$ М) не изменяет скорость выделения кислорода хлоропластами при стационарном освещении. Следовательно, присутствие фузикокина не нарушает работу кислородвыделяющего комплекса.

Таким образом, полученные результаты показывают, что действие фузикокина, даже при высоких концентрациях, на фотохимическую активность хлоропластов не носит ингибирующего характера.

ЛИТЕРАТУРА

1. Гавриленко В. Ф., Ладыгина М. Е., Хандобина Л. М. Большой практикум по физиологии растений, «Высшая школа, М., 1975.
2. Гольдфельд М. Г. Биофизика, 27, 6, 954, 1982.
3. Гудвин Т., Мерсер Э. Введение в биохимию растений, 2, «Мир», М., 1986.
4. Каличава Г. С., Тивадзе Г. В., Канделаки М. Д., Дanelia Г. Н. С/х биология, 5, 21—23, 1988.
5. Краснополяская Л. М., Коренева В. М., Муромцев Г. С. Микология и фитопатология, 18, 1, 48—50, 1984.
6. Тихонов А. Н., Рууге Э. К., Субчински В. К., Блюменфельд Л. А. Физиол. раст., 22, 1, 5—7, 1975.
7. Blenkinship K. E., Sauer K. Biochem. biophys. Acta, 357, 2, 252 — 254, 1974

ფუზიკოკინის მოქმედება ხორბლიდან გამოყოფილი კლოროპლასტების ფოტოსინთეზის აქტიუბაზე

ბ. აფიფვილი, ზ. სიმონიანი, დ. კალანდანი, ზ. კალიჩავა, ლ. კრასნოკოლსკაია

სასოფლო-სამეურნეო ბიოტექნოლოგიის საკავშირო სამეცნიერო-კვლევითი ინსტიტუტის რეგიონალური ფილიალი, თბილისი

რ ე ზ ი უ მ ე

შრომაში განხილულია ფუზიკოკინის მოქმედება ჟანგბად-გამომყოფ კომპლექსზე და ელექტრონების ტრანსპორტზე ფოტოსინთეზის ორივე სტადიაზე. ქლოროპლასტები გამოიყოფოდა ხორბლიდან „ომსკაია 9“.

გამოყენებული ეპრ-სპექტროსკოპიის

და პოლაროგრაფიის მეთოდით გამოკვლევის შედეგებმა გვიჩვენა, რომ მაღალი კონცენტრაციის ფუზიკოკინი 10^{-4} არ ახდენს გავლენას ელექტრონების ტრანსპორტზე და არ იწვევს ცვლილებებს ჟანგბად-გამომყოფ კომპლექსის მუშაობაში ფოტოსინთეზის ორივე სტადიაზე.

THE INFLUENCE OF FUSICOCKCINE ON PHOTOCHEMICAL ACTIVITY OF WHEAT CHLOROPLASTS



T. ADEISHVILI, G. SIMONYAN, D. KALANDADZE, G. KALICHAVA,
L. KRASNOPOLSKAIA

Regional Department of the All-Union Research Institute of Agricultural Biotechnology,
Tbilisi All-Union Research Institute of Agricultural Biotechnology, Moscow

S u m m a r y

The influence of fusicockcine on electron-transporting chain functioning and oxygen-educing (secreting) complex was measured functioning of two wheat chloroplast photosystems of "Omskaia 9" Sort.

By applying of ESR-spectroscopy and polyrographic method, it was discovered, that at high fusicockcine concentrations ($1.10 \cdot 4m$) there is no breaking of electron-transporting chain and oxygen-educing (secreting) complex work

შპს 581.1

მცენარეთა ფიზიოლოგია

პლასტიდური პიგმენტებისა და ასკორბინმჟავას შემცველობა ტრიტიკალე ვოსა 1 აღმონაცენებში

ლ. კაკაშაძე, მ. წარბთელი, მ. შუშუნაძე

თბილისის სახელმწიფო უნივერსიტეტი

შემოსულია რედაქციაში 10.10.90

ტრიტიკალე ვოსე 1-ის აღმონაცენებში განვითარების სხვადასხვა ფაზაში შესწავლილ იქნა პლასტიდური პიგმენტებისა და ასკორბინმჟავას რაოდენობა. აღმოჩნდა, რომ პლასტიდური პიგმენტების სინთეზი ვოსე 1-ში ძირითადად პირველი ფოთლის ფორმირებასთანავე ხდება. ფუნქციური დამოკიდებულების განსაზღვრამ აჩვენა, რომ ასკორბინმჟავასა და ქლოროფილს შორის 1 და 2 ფოთლის ფაზაში პირდაპირ პროპორციული კავშირია, ხოლო მე-3 ფოთლის ფაზაში კი — უარყოფითი.

სადღეისოდ ექვევარეშა აქტიური ბიოლოგიური ნივთიერებების, პლასტიდური პიგმენტებისა და ასკორბინმჟავას დიდი როლი მცენარის პლასტიკურ და ენერგეტიკულ ცვლაში. კერძოდ, ქლოროფილს და მის თანმხლებ პიგმენტებს აქვთ მკვეთრად გამოხატული და მრავალმხრივი ბიოქიმიური როლი ფოტოსინთეზში და არაფოტოსინთეზურ პროცესებში [1, 5]. მნიშვნელოვანია ასკორბინმჟავას მონაწილეობა ენერგეტიკულ ცვლაში. ციტოპლაზმაში ასკორბინმჟავა-ასკორბატოქსიდაზა სისტემის მუშაობა დაკავშირებულია გლუ-

ტათონის ქანგვა-აღდგენასთან. გარდა ამისა, ასკორბინმჟავა ერთ-ერთი იმ ნივთიერებათაგანია, რომელნიც ცოცხალ ორგანიზმში რადიოპროტექტორის ფუნქციას ასრულებენ, ე. ი. ის მონაწილეობს იმ თავისუფალი რადიკალების შებოჭვაში, რომლებიც ჩნდება დასხივების დროს ან ახდენს ისეთი რეაქციების ბლოკირებას, რომლებიც ხორციელდება რადიაციულ-ქიმიური პროცესების პროდუქტებით. დაცვისა და აღდგენის ეს მექანიზმები მხოლოდ მცენარეული ორგანიზმისათვის არ არის სპეციფიკური [4].

საცდელი ობიექტი და მეთოდიკა

ცდები ჩატარეთ ხორბლისა და ჭვავის ჰიბრიდის ტრიტიკალე ვოსე 1-ის აღმონაცენებზე. პირველი ჰიბრიდი მიღებული იყო 1970 წელს ინგლისელი ბოტანიკოსის ს. ვილსონის მიერ. ამჟამად მსოფლიოს სხვადასხვა ქვეყანაში ტრიტიკალეს ბევრი ჯიშია გამოყვანილი. ისინი გამოირჩევიან მარცვლისა და ბიომასის მაღალი პროდუქტიულობით, ხასიათდებიან ზამთარგამძლეობით, სოკოვანი დაავადებების მიმართ გამძლეობით და სხვა დადებითი

თვისებებით. საცდელი ობიექტის — ტრიტიკალე ვოსე-1 მწვანე მასა იმდენად უზენაა, რომ მეცხოველეობისათვის მას დიდი მნიშვნელობა აქვს, როგორც საკვებს. ტრიტიკალე ვოსე-1 გამოყვანილია ტაჯიკეთის მეცნიერებათა აკადემიის მცენარეთა ფიზიოლოგიისა და ბიოქიმიის ინსტიტუტის და მოსკოვის მოსავლიანობის გენეტიკის ლაბორატორიის ერთობლივი მუშაობის შედეგად მაგარი ჯიშის ხორბლის *Triticum durum*-ისა და ჭვავის *Secale*-ს



შეჯერებით. იგი 1985 წლიდან ფართოდ იცდება საქართველოს რესპუბლიკის სხვადასხვა ზონის განსხვავებულ ნიადაგურ პირობებში (საგარეჯოს, გარდაბნის, თეთრიწყაროს, ხობის რაიონებში). ტრიტიკალე ვოსე 1-ის გამოცდამ საქართველოში აჩვენა, რომ მას შეუძლია მოგვცეს მაღალი მოსავალი ჩვენი ქვეყნის სხვადასხვა ნიადაგურ-გეოგრაფიულ პირობებში და უზრუნველყოს მესაქონლეობა ხარისხიანი საკვებით [3].

ფოთლის პლასტიდურ პიგმენტებს ესაზღვრავდით საპოქნიკოვის მეთოდით [7] სპექტრომეტრ CФ-4-ზე ტალღათა შემდეგ სიგრძეებზე: ქლოროფილის a—600, 662, 664 ნმ, ქლოროფილის b—642, 644, 646 ნმ; ხოლო კაროტინოიდებს—428, 430, 432 ნმ. შედეგები გავინგარიშეთ ვეტშტეინის ფორმულით [9]. ასკორბინის მჟავა განესაზღვრეთ ტილმანსის მოდიფიცირებული მეთოდით [8].

კვლევის შედეგები

მიღებული შედეგებიდან ჩანს, რომ (ცხრილი 1) პლასტიდური პიგმენტების

ზაში ფოთლის ფირფიტის შუა ნაწილში. რაც საერთოდ ზრდის პიგმენტების ჯამ-

ცხრილი 1

პლასტიდური პიგმენტების შემცველობა ტრიტიკალე ვოსე 1-ის აღმონაცენებში (მგ/გ ნედლ წონაზე)

განვითარების ფაზა	ფოთლის ნაწილი	პლასტიდური პიგმენტების რაოდენობა			
		ქლოროფილი a	ქლოროფილი b	კაროტინოიდები	საერთო რაოდენობა
1 ფოთლის შუა	წვერი	0,023	0,015	0,011	0,049
		0,198	0,011	0,014	0,223
2 ფოთლის შუა	წვერი	0,022	0,014	0,008	0,044
		0,023	0,011	0,013	0,051
3 ფოთლის შუა	წვერი	5,029	0,011	0,014	0,054
		0,041	0,015	0,023	0,079

ცხრილი 2

ასკორბინმჟავას შემცველობა ტრიტიკალე ვოსე 1-ის თესლში და აღმონაცენებში (მგ% ნედლ წონაზე)

განვითარების ფაზა					
მშრალი თესლი	გაცივინებული თესლი	წვერნაკრავი თესლი	1 ფოთლის	2 ფოთლის	3 ფოთლის
1,04	3,15	4,50	1,58	1,46	1,23

რაოდენობა განვითარების ფაზების მიხედვით იცვლება, ფოთლის შუა ნაწილში მათი შემცველობა მეტია ფოთლის წვერთან შედარებით. ქლოროფილი a-ს რაოდენობა ყოველთვის მნიშვნელოვნად აღემატება ქლოროფილ b-ს რაოდენობას. აღსანიშნავია, რომ ქლოროფილი a-ს რაოდენობა მაქსიმალურია 1 ფოთლის ფა-

საც. განვითარების შემდეგ ფაზაში ქლოროფილი a-ს შემცველობის შემცირება ფოთლის შუა ნაწილში შეიძლება გამოწვეული იყოს ფოთლის გაზრდილ ფართობზე ქლოროფილის გადაწევა. სავარაუდოა აგრეთვე ისიც, რომ ქლოროფილი a-ს სინთეზი ძირითადად პირ-



ველი ფოთლის ფორმირებისთანავე მთავრდება.

ასკორბინმჟეავას შემცველობა (ცხრილი 2) მოსვენების მდგომარეობაში მყოფ თესლში მცირეა. ფოთლებში ასკორბინ-

ცხრილი 3

კორელაციის კოეფიციენტები ტრიტიკალე ვოსე 1-ის აღმონაცენების ფოთლებში ქლოროფილ ა-ს, ქლოროფილ ბ-ს და ასკორბინმჟეავას შორის

ნიეთიერება	განვითარების ფაზა		
	1 ფოთლის	2 ფოთლის	3 ფოთლის
ქლოროფილი a			
ქლოროფილი b	0,39	0,95	0,92
ასკორბინმჟეავა			
ქლოროფილი a	0,9	0,64	-0,82
ასკორბინმჟეავა			
ქლოროფილი b	0,39	0,64	-0,78

მჟეავას შემცველობა განვითარების ფაზების მიხედვით თანდათან იკლებს. ყველაზე მცირე რაოდენობითაა მე-3 ფოთლის ფაზაში.

მიღებული შედეგების ანალიზი

მიღებული შედეგებიდან ჩანს, რომ ტრიტიკალე ვოსე 1-ის აღმონაცენებში პლასტიდური პიგმენტების, კერძოდ ა ქლოროფილის და კაროტინოიდების სინთეზი ძირითადად პირველი ფოთლის ფორმირებისთანავე ხდება. კაროტინოიდები კი არამარტო გადასცემენ ქლოროფილს შთანთქმულ ენერგიას, არამედ საჭიროების შემთხვევაში მათ შეუძლიათ მიიღონ ჰარბი ენერგია ქლოროფილიდან. კაროტინს გადააქვს ფლოსფორმჟეავას იონები ადფ-ზე, რისგანაც წარმოიქმნება ატფ, რაც ხელს უწყობს მცენარეში მიმდინარე ბიოქიმიურ პროცესებს.

ლიტერატურის მონაცემებით [2] ცნო-

ბრიტიკალე ვოსე 1-ის აღმონაცენებში ფოთლებში შესწავლილ ბიოქიმიურ მანკვენებლებს შორის განვსაზღვრეთ კორელაციური კავშირი, როგორც ცხრილი 3-დან ჩანს, კორელაციის კოეფიციენტი თითქმის ყველგან მაღალია. რეგრესიის მეთოდის გამოყენებით დავამყარეთ ფუნქციური კავშირი აღნიშნულ სიდიდეებს შორისა და მივიღეთ შემდეგი გამოსახულებები:

$$C_1 = 1.58 + 0.6 a_1 + 2.9b_1$$

$$C_2 = 1.46 + 1.2 a_2 + 2.3b_2$$

$$C_3 = 1.23 - 1.16a_3 - 0.9b_3$$

სადაც C აღნიშნავს ასკორბინმჟეავას რაოდენობას, a — ქლოროფილ ა-ს, b — ქლოროფილ ბ-ს, ხოლო ინდექსი 1, 2, 3 შესაბამის განვითარების (1 ფოთლის, 2 ფოთლის, 3 ფოთლის) ფაზას. როგორც ჩანს, ტრიტიკალე ვოსე 1-ის აღმონაცენების ფოთლებში 1 და 2 ფოთლის ფაზაში ასკორბინმჟეავასა და ქლოროფილ ა-სა და ხ-ს შორის კორელაცია დადებითია, ხოლო მე-3 ფოთლის ფაზაში კი — უარყოფითი.

ბილია ისიც, რომ ქლოროფილის გარკვეული რაოდენობით დაგროვება წინ უსწრებს მემბრანისა და შესაბამისად გრანულარული სტრუქტურის წარმოქმნას და არა ქლოროფილის, არამედ მხოლოდ პლასტიდური მემბრანის წარმოქმნის შემდეგ იწყება ფოტოსინთეზის პროცესი ფოთოლში. აქედან გამომდინარე სავარაუდოა, რომ პლასტიდური პიგმენტების სინთეზი განაპირობებს ქლოროპლასტური აპარატის სტრუქტურის სრულყოფის დაჩქარებას და მის მაღალ ფუნქციურ აქტიობას. სავარაუდოა, რომ ეს არის ტრიტიკალე ვოსე 1-ის მაღალი პროდუქტულობის საფუძველი.

ლიტერატურა

1. ქუთათაძე თ. საქართველოს სსრ მეცნიერებათა აკადემიის შობაზე, XXXVIII, 1, 522—526, 1965.
2. Тенерозова Н. П. Ультраструктура хлоропластов, Атлас, М., 1965.
3. Насыров Ю. С. Методические указания по возделыванию ВОСС-1 в услови-
4. Серия биологическая, т. 17, № 6

5. ях Таджикской и Грузинской ССР, ТГУ, Тбилиси, 1962.
4. Полевой В. В. Физиология растений, «Вышая школа», М., 1989.
5. Радченко С. Н., Яковлева Н. Д. Бот. журн., 46, 6, 1961.



6. Рокицкий Л. Ф. Биологическая статистика, Минск, 1973.
 7. Сапожников Д. И. Экспериментальная ботаника, 8, изд-во АН СССР, М., 1951.
 8. Ярош Н. П., Ермаков А. Н. Опре-

деление активности ферментов. Методы биохимического исследования растений. «Колос», Л., 1972.
 9. Wettstein S. Cell Research, 12, 427-506, 1957.

СОДЕРЖАНИЕ ПЛАСТИЧЕСКИХ ПИГМЕНТОВ И АСКОРБИНОВОЙ КИСЛОТЫ В ПРОРОСТКАХ ТРИТИКАЛЕ ВОСС-1

Л. Д. Какушадзе, Ц. Г. Церетели, М. Ш. Жужунадзе

Тбилисский государственный университет

Резюме

Изучали количество пластических пигментов и аскорбиновой кислоты в проростках тритикале ВОСС-1 в различных фазах их развития. Было установлено, что синтез пластических пигментов в ВОСС-1, в основном, происходит уже при формировании пер-

вого листка. Определение функциональной зависимости выявило, что между аскорбиновой кислотой и хлорофиллом в фазе одного и двух листков имеется прямо-пропорциональная связь, а в фазе 3-х листков — обратная.

THE PLASTID PIGMENTS AND ASCORBIC ACID CONTENTS IN THE SPROUTS OF TRITICALE VOSS-1

L. KAKUSHADZE, Ts. TSERETELI, M. ZHUZHUNADZE

Tbilisi State University

Summary

The amount of plastid pigments and ascorbin acid in the sprouts of Triticale Vose-1 at different stages of development was studied. It was shown, that the synthesis of plastid pigments takes place immediately after the formation

of the first leaf. At the same time the alteration of chlorophile and ascorbin acid amount has positive dependence in the stage of the first and the second leaf and in the stage of the third leaf — negative dependence.

№ 6 576.8

მიკრობიოლოგია

მაგნიტოტაქტიკური მიკროორგანიზმების გავრცელება
საპარტიველოს წყალსაცავებში

რ. ავაშია, მ. მათითაშვილი, თ. სულაძე, თ. ხანიშვილი, თ. კურცხალია

ბ. ელიავას სახელობის სამეცნიერო-საწარმოო გავრცელება „ბაქტერიოფაგი“, თბილისი
ევროპის მოლექულურ-ბიოლოგიური ლაბორატორია, პეიდელბერგი

შემოსულია რედაქციაში 7.03.91

ჩატარებულია მაგნიტოტაქტიკური ბაქტერიების კვლევა საქართველოს სხვა-დასხვა რეგიონის წყალსაცავებში. აღმოჩენილია 5 სახეობის მაგნიტოტაქტიკური მიკროორგანიზმები, რომლებიც ურთიერთმედგენ დედამიწის მაგნიტურ ველთან — მათი მოძრაობის უპირატეს მიმართულებას წარმოადგენს ჩრდილოეთი.

როგორც სინათლის, ასევე ელექტრონული მიკროსკოპის საშუალებით შესწავლილია ამ მიკროორგანიზმების მორფოლოგიური მახასიათებლები; თითოეული მათგანის შემადგენლობაში შენიშნულია მაგნიტური დომენების ე. წ. მაგნიტოსომების არსებობა. ამ ორგანიზმების ფორმა, ზომები და უჯრედშიდი რაოდენობა მკაფიოდ სახესპეციფიურია.

მიკრობული სამყაროს ერთ-ერთი ყველაზე უფრო საინტერესო და ამავე დროს, ნაკლებშესწავლილ ფენომენს წარმოადგენენ მიკროორგანიზმები, რომლებიც ორიენტირდებიან დედამიწის მაგნიტურ ველში და მოძრაობენ ამ ველის ძალწირების მიმართულებით. ეს მიკრობები ე. წ. მაგნიტოტაქტიკური ბაქტერიები აღმოჩენილ იქნენ 1975 წელს ბლემორის მიერ [4]. უკანასკნელი ათი წლის განმავლობაში, მთელი რიგი მკვლევარების მიერ დადგენილ იქნა ასეთი ბაქტერიების ზოგიერთი მორფო-ფიზიოლოგიური და ბიოქიმიური თვისებანი [2, 5, 6, 12, 14]. კერძოდ ნაჩვენები იქნა, რომ მაგნიტოტაქტიკური მიკროორგანიზმები ასინთეზირებენ უჯრედშიდა მაგნიტური ნაწილაკების მწკრივს, რომელიც განაპირობებს ამ ბაქტერიების მოძრაობის მიმართულებას დედამიწის მაგნიტურ ველში [9]. აღმოჩნდა, რომ მაგნიტოტაქსისი საკმაოდ გავრცელებული მოვლენაა მიკრობულ სამყაროში, და რომ ეს უნარი ახასიათებთ სხვადასხვა ფორმისა და ზომის მიკროორგანიზმებს დედამიწის ყველა რეგიონში. ამავე დროს ჩრდილო ნახევარსფეროში აღმოჩენილი ბაქტერიული სახეობანი მისწრაფებენ ჩრდილო პოლუსისაკენ, ხოლო სამხრეთი ნახევარსფეროში — სამხრეთისაკენ [5].

მიუხედავად დიდი მცდელობისა, დღეისათვის სუფთა კულტურის სახით მიღებულია მაგნიტოტაქტიკური ბაქტერიების ერთადერთი სახეობა — *Aquaspirillum magnetotacticum* MS -1. ეს ბაქტერია წარმოადგენს სპირილას, ბიპოლარულად განლაგებული შოლტებით და შეიცავს მემბრანით გარშემორტყმული, 40—100 ნმ ზომის მაგნიტური ნაწილაკების მწკრივს. რენტგენოსტრუქტურული და მიოსბაუერის სპექტრების ანალიზის შედეგად დადგენილი იქნა, რომ ეს ნაწილაკები წარმოადგენენ სუფთა მაგნეტიტს — Fe_3O_4 . მემბრანით გარშემორტყმულ მაგნიტურ ნაწილაკს ეწოდა „მაგნიტოსომა“ [2].

ამავე დროს მთელი რიგი მნიშვნელოვანი და საინტერესო საკითხებისა და დღეისათვის სრულად გაურკვეველია. კერძოდ,



როგორია რკინის იონების გარემო არიდან უჭრადსწივნიტ ტრანსპორტის მექანიზმი? რა ვანაპირობებს მაგნიტური დომენების ფორმას, ზომას, რაოდენობას და მიმართულებას? რაში მდგომარეობს მაგნიტოტაქსისის ბიოლოგიური არსი? რა თავისებურებანი ახასიათებს მაგნიტოტაქტიკური ბაქტერიების გენეტიკურ აპარატს? შეიძლება თუ არა ბიოგენური მაგნიტის სამედიცინო და საწარმოო პრაქტიკაში გამოყენება?

უნდა ითქვას, რომ დღეისათვის კულტივირებული *Aquaspirillum magnetotacticum* არ არის ზელსაყრელი ობიექტი

ბასალა და მეთოდავი

მაგნიტოტაქტიკური ბაქტერიების ძიებას ვაწარმოებდით შემდეგ წყალსაცავებში: კუს ტბა, ლისის ტბა, თბილისის წყალსაცავი, ბაზალუთის ტბა, ნაღარბაშევის ტბა, ჯანდარის ტბა, სიონის წყალსაცავი, ეინვალის წყალსაცავი, საღამოს ტბა, ფარაენი, პალიასტომი, ბათუმის პიონერთა პარკის ტბა, აგრეთვე დიდძალ რაოდენობა მცირე ზომის წყალსაცავებსა და დაჭაობებულ ადგილებში საქართველოს სხვადასხვა რეგიონში. სულ აღებულ იქნა სინჯები 42 წყალსაცავის ჩრდილო ნაპირიდან, ამასთან თითოეული წყალსაცავიდან ვიღებდით 5—6 სინჯს. განსაკუთრებულ ყურადღებას ვანიჭებდით ორგანული ნაშთებით, შლამით და მცენარეული ნარჩენებით მდიდარ წყალსაცავებს.

სინჯებს ვიღებდით სტერილურ კოლებში იმდავარად, რომ შლამისა და წყლის შეფარდება ჭურჭელში ყოფილიყო 1:3. აღებულ სინჯებს ვანიჭებდით 1—2 თვის განმავლობაში ოთახის ტემპე-

მიღებული შედეგები და მათი განხილვა

როგორც ცნობილია, უმრავლეს შემთხვევებში მაგნიტოტაქტიკური ბაქტერიებისათვის ოპტიმალურ საცხოვრებელ არეულ წარმოვეიდგება ორგანული ნაერთებით მდიდარი მცირე ზომის ევტროფული ტბები და წყალსაცავები, აგრეთვე დაჭაობებული ადგილები [5]. ეს გარემოება მიღებულ იქნა ერთ-ერთ ძირითად ამოსავალ წერტილად ჩასატარებელი ძიებისას

დიდი რაოდენობით ბიოგენური მაგნიტის მისაღებად; მისი გამრავლება მოითხოვს რთული მრავალკომპონენტური არის და ნატიფი ლაბორატორიული მეთოდების გამოყენებას.

ყოველივე ზემოთქმულიდან გამომდინარე ექვსგარეშეა ახალი მაგნიტოტაქტიკური ბაქტერიების იდენტიფიცირებისა და გამოკვლევის აქტუალობა. წინამდებარე შრომა მიძღვნილია საქართველოს სხვადასხვა რეგიონების ბუნებრივ თუ ხელოვნურ წყალსაცავებში მაგნიტოტაქტიკური ბაქტერიების გავრცელების შესწავლას.

რატურაზე სუსტი განათების პირობებში. პერიოდულად სინჯების შემცველ ჭურჭლებში ვამატებდით დისტილირებულ წყალს აორთქლებული წყლის სანაცვლოდ; ამასთანავე ვაწარმოებდით მიკროსკოპულ ანალოზს მაგნიტოტაქტიკური ბაქტერიების შემცველობაზე. ამისათვის კოლბის ზედაპირთან ვამაგრებდით მუდმივ მაგნიტს, ხოლო ჭურჭელში ვათავსებდით მაცუნავას და თანავეტორების [10] მიერ მოწოდებულ გასაფლტრ მოწყობილობას.

მაგნიტოტაქტიკური ბაქტერიების დეტექციას, მათი მოძრაობის მიმართულების და სიჩქარის განსაზღვრას ვაწარმოებდით Nikon-ის ფირმის TMD-2 მიკროსკოპის საშუალებით. ბაქტერიული უჯრედების დეტალურ მორფოლოგიურ გამოკვლევას ვანხორციელებდით JEOL-ის ფირმის JEM 1200 EX ელექტრონული მიკროსკოპის საშუალებით, სტანდარტული მეთოდების გამოყენებით.

წყალსაცავების ამოსარჩევად. ამასთან, სინჯებს ვიღებდით მსალოდ ჩრდილო ნაპირებთან მიმდებარე ტერიტორიებიდან, რადგან ცნობილია, რომ ჩრდილო ნახევარსფეროში მაგნიტოტაქტიკური ბაქტერიების მოძრაობის უპირატეს მიმართულებას ჩრდილოეთი წარმოადგენს.

დღემდე აღმოჩენილი მაგნიტოტაქტიკური ბაქტერიების აბსოლუტური უმრავ-

ლესობა მიკროაეროფილებია [8], ზოგიერთ შემთხვევაში კი ობლივატური ანაერობები [3]. სწორედ ამიტომ, სინჯებს ვიღებდით 10—50 სმ სიღრმიდან, შესაბამისი სიფრთხილის დაცვით, ატმოსფერულ ჰაერთან ინტენსიური კონტაქტის თავიდან ასაცილებლად.

ჩატარებული კვლევის შედეგად, დადგინდა იქნა, რომ ექვსი წყალსაცავის მიკროფლორის შემადგენლობაში არსებობენ მიკროორგანიზმები, რომლებიც რეაგირებენ დედამიწის მაგნიტურ ველთან, აგრეთვე სასკოლო მაგნიტის მიერ გენერირებულ ველთან. ასეთი მიკროორგანიზმები აღმოჩენილ იქნა ჯანდარის, საღამოს და ფარავანის ტბებში, პალიასტომში და მის მახლობლად მდებარე მცირე წყალსაცავებში, აგრეთვე ბათუმის პიონერთა პარკის ტერიტორიაზე განლაგებულ ბუნებრივ ტბაში. ყველა ეს წყალსაცავი მდიდარია ორგანული ნაშთებით და შლამით.

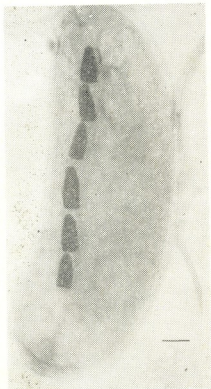
სინათლის მიკროსკოპით ჩატარებულმა დაკვირვებებმა გვიჩვენა, რომ ეს მიკროორგანიზმები მოძრაობენ უმეტეს წილად ჩრდილოეთის მიმართულებით, ხოლო მათი მოძრაობის სიჩქარე და ტრაექტორია მკვეთრად განსხვავდება ერთმანეთისაგან. ამასთან უნდა აღინიშნოს, რომ ამა თუ იმ წყალსაცავში, რომელშიც აღმოჩენილ იქნა მაგნიტოტაქტიკური მიკროორგანიზმები, პრევალირებდნენ ერთ-ერთი სახის მაგნიტომგრძობობიარე მიკრობები.

აღმოჩენილი მაგნიტოტაქტიკური მიკროორგანიზმების მორფოლოგიის შესწავლამ გვიჩვენა ამ ბაქტერიების ფორმათა მნიშვნელოვანი სხვადასხვაობა. ასე მაგალითად, ჯანდარის ტბაში არსებულ ბაქტერიებს ახასიათებთ ჩხირისებრი ფორმა (სურ. 1) და შეიცავენ პირამიდალური მაგნიტური დომენების ერთ მწკრივს. თითოეულ უჯრედში მოთავსებულია 6 მაგნიტოსომა, რომლის ზომებია $150 \times 50 \times 50$ ნმ.

მაგნიტოტაქტიკური ბაქტერიების შემცველობით განსაკუთრებით მდიდარი აღმოჩნდა ბათუმის პიონერთა პარკის ტბის სინჯები (სურ. 2ა). გარკვეულ პირობებში ეს მაგნიტური კოკები შეადგენდნენ სინჯში არსებული მიკროფლორის აბსოლუტურ უმრავლესობას. მათი უჯრედები შე-

იცავენ კუბური ფორმის მაგნიტურ დომენების ორ მწკრივს. მაგნიტოსომების ზომებია $80 \times 80 \times 100$ ნმ. ამ ბაქტერიებს ახასიათებთ პერიფერიულად განლაგებული, მეტად მძლავრი შოლტოვანი სამოძრაო აპარატი (სურ. 2ბ).

პალიასტომის ტბასა და მის მახლობლად მდებარე მცირე ზომის წყალსაცავებში აღმოჩენილ იქნა ძალზე წარბელებული ერთუჯრედიანი მიკროორგანიზმები, რომლებიც შეიცავენ კუბური ფორ-



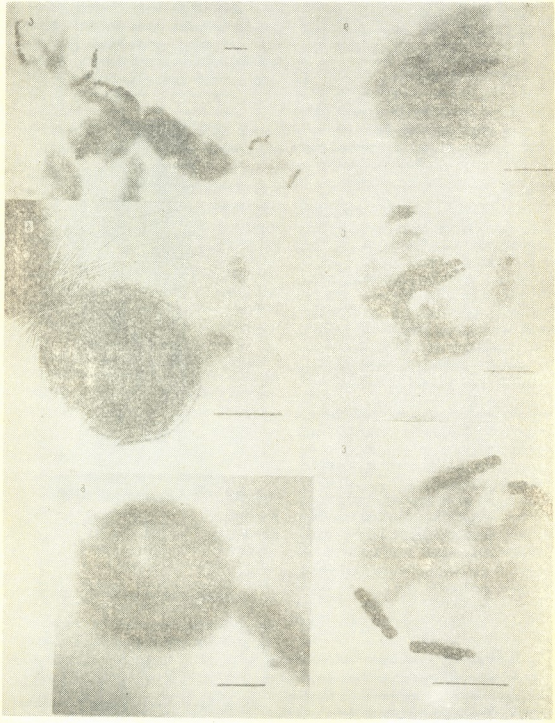
სურ. 1. ჯანდარის ტბაში აღმოჩენილი მაგნიტოტაქტიკური ბაქტერია (მასშტაბის ხაზის სიგრძეა 500 ნმ)

მის მაგნიტოსომების გრძელ მწკრივს (სურ. 3ა). ამავე წყალსაცავებში ჩვენ აღმოვაჩინეთ სფერული ფორმის, ძალზე დიდი დიამეტრის მაგნიტოტაქტიკური უჯრედები (სურ. 3ბ), რომლებსაც მაღალი ელექტრონული სიმკვრივის წარმონაქმნები განლაგებული აქვთ უჯრედის ზედაპირზე. ამ „გიგანტური“ უჯრედების მოძრაობის სიჩქარე და ტრაექტორია მკვეთრად განსხვავდება სხვა მაგნიტოტაქტიკური მი-



კროორგანიზმებისაგან, თუმცა მაგნიტურ ველთან მათი ურთიერთქმედების ხასიათი, ცალსახად მიუთითებს ამ უჯრედების მაგნიტოტაქტიკურ „ქცევაზე“.

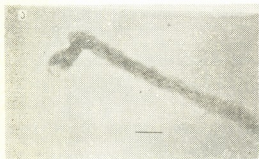
სალამოსა და ფარავნის ტბებში მდებარე მთელი ნანახი იქნა მაგნიტური სპირალები (სურ. 4), რომლებიც პრინციპულად არ განსხვავდებიან ბლექმორის მიერ აღმო-



ურ. 2. ბათუმის პონერთა პარკის ტბაში აღმოჩენილი მაგნიტოტაქტიკური ბაქტერიები (მასშტაბის ხაზის სიგრძეა 200 ნმ)

ჩენილ A. Magnetotacticum MS-1 შტამი-საგან.

ჩვენს მიერ საქართველოს წყალსატე-ვებში ნანახი მაგნიტოტაქტიკური მიკრო-



სურ. 3. პალასტოში აღმოჩენილი მაგნიტოტაქტიკური მიკროორგანიზმები (მასშტაბის ხაზის სიგრძეა 1 მკ)

ორგანიზმების ზოგიერთი ტიპი აღწერილია რიგი უცხოელი მეკლევარების მიერ [1, 5], მაგრამ ერთადერთი სახეობა, რომელიც შედარებით დეტალურადაა შესწავლილი არის *Aquaspirillum magnetotacticum* [2]. ეს ბაქტერია მიღებულია სუფთა ხაზის სახით [7], რამაც საშუალება მისცა მეკლევარებს არა მარტო მიკრობიოლოგიური და მორფოლოგიური სამუშაოების ჩატარებისა, არამედ რიგი ბიოფიზიკური და გენეტიკური პარამეტრების შესწავლისა. ასეთი კვლევების განხორციელება მოითხოვს მიკროორგანიზმის სუფ-

თა კულტურის მიღებას. ამავე დროს უკერძობის მორფოლოგიური დეტალების შესწავლისათვის, აგრეთვე თავად ბიოგენური მაგნიტიტის თვისებების შესასწავლად, საკმარისია მიკრობის გამდიდრებული კულტურის არსებობა.

ჩვენს მიერ გამოყენებული, მაცუნაგას მიერ მოწოდებული მეთოდური ხერხი [10], საშუალებას გვაძლევდა ასეთი გამდიდრებული კულტურის მიღებისა.

ამ გზით ჩვენს მიერ მიღებული იქნა პრეპარატები, რომლებიც უპირატესად შეიცავდნენ მაგნიტოტაქტიკურ ბაქტერიებს. ობიექტად ასეთი პრეპარატების მისაღებად უჯრედის მორფოლოგიის და მაგნიტოსომების სტრუქტურისა და ორგანიზაციის შესასწავლად ავიჩინეთ ბათუმის პიონერთა პარკის ტბის მაგნიტოტაქტიკური ბაქტერიები.

როგორც უკვე აღვნიშნეთ, ეს მიკროორგანიზმები ლაბორატორიულ პირობებში მათი მოთავსებისას შედარებით სწრაფად მრავლდებიან და 1—2 თვის ინკუბაციის შემდეგ მათი კონცენტრაცია აღწევს 10^7 — 10^8 უჯ/მლ. როგორც ჩანს წარმოდგენილი შედეგებიდან (სურ. 2გ), ეს უჯრედები შეიცავენ მაგნიტური დომენების ორ მწკრივს, თითოეულ მწკრივში 6—10 მაგნიტოსომით. ამავე დროს ყველა მაგნიტოსომა, გარდა მწკრივის ბოლოებში განლაგებულებისა, თანაბარი ზომისაა. მაგნიტოსომების ზომების ასეთი განაწილება მიუთითებს ბიომინერალიზაციის პროცესის დაუმთავრებლობაზე. ამ პოპულაციის ბაქტერიული უჯრედების უმრავლესობაში მაგნიტური დომენების მწკრივები განლაგებულია ერთმანეთის პარალელურად, უჯრედის ზედაპირთან ახლოს. მაგნიტოსომების ასეთ განლაგებას უნდა ჰქონდეს გარკვეული ბიოლოგიური არსი, რადგანაც ამ შემთხვევაში სავარაშთადად იზრდება ბაქტერიული უჯრედის ჯამური მაგნიტური მომენტი. აქვე უნდა აღინიშნოს, რომ მაგნიტოტაქტიკური უჯრედების მაგნიტური მომენტი არასოდეს არ აღემატება $1,3 \times 10^{-12}$ ერგ/გაუსი სიდიდეს [5]. ამ ფენომენსაც აქვს თავისი განმარტება, რადგან ამ სიდიდეზე მეტი მაგნიტური მომენტის არსებობა გამოიწვევდა უჯრედების ერთმანეთზე შეწყობას.



ზოგიერთ შემთხვევაში პრეპარატებში შეინიშნებოდნენ უჯრედები, რომლებშიაც მაგნიტოსომების მწკრივები არ იყვნენ პარალელურად განლაგებული (სურ. 2დ). აგრეთვე, გვხვდებოდა უჯრედები, საში მაგნიტოსომალური მწკრივით (სურ. 2ე). გამორიცხული არ არის, რომ ასეთი ცვლილებები გამოწვეულია უჯრედების დაზიანებით ელექტრონულ მიკროსკოპული პრეპარატების მომზადების დროს.

უძლიათ დაასინთეზირონ ნანომეტრული ზომის მაგნიტური ნაწილაკები, ხსნის ასეთი სისტემის საწარმოო გამოყენების პერსპექტივას. სუბმიკრონული ზომის მაგნიტური ნაწილაკების წარმოების ახალი, იაფი მეთოდების განვითარებამ შესაძლებელია დიდი გავლენა მოახდინოს მალალტექნოლოგიური ინდუსტრიის ბევრ სფეროზე. ასე მაგალითად, ბიოგენური მაგნიტის გამოყენება შესაძლებელია მაგ-



სურ. 4. სალაშოსა და ფარანის ტბაში აღმოჩენილი მაგნიტოტაქტიკური სპირილა (მასშტაბის ხაზის სიგრძეა 500 მკმ)

ზოგიერთ პრეპარატში შემჩნეულ იქნა გაყოფის პროცესში მყოფი მაგნიტოტაქტიკური უჯრედები (სურ. 2ვ). როგორც სურათიდან სჩანს, თავდაპირველად ხდება მაგნიტოსომების რაოდენობის გაორმაგება და მხოლოდ ამის შემდეგ იწყება უჯრედის გაყოფა ორ შვილეულ უჯრედად. პროცესის ასეთი მიმდინარეობა ცალსახად მიუთითებს, რომ მაგნიტოსომების წარმოქმნა და ორგანიზაცია უჯრედში გენეტიკურად არის დეტერმინირებული.

ჩვენს მიერ ჩატარებული კვლევა ცხადყოფს, რომ თუმცა მაგნიტოტაქტიკური ბაქტერიების შესწავლა საწყის ეტაპზე იმყოფება, ამ მიმართულების სამუშაოები შეიძლება მეტად საინტერესო აღმოჩნდეს როგორც ფუნდამენტური, ასევე პრაქტიკული თვალსაზრისით. ის ფაქტი, რომ ბაქტერიულ უჯრედებს შე-

ნიტური ფირების დამზადების საქმეში, მაგნიტურ მეხსიერებიანი აპარატურის და მაგნიტური წრედების მანუფაქტურაში, აგრეთვე ბიოსენსორების და სხვადასხვა მედიკამენტების შექმნისა და წარმოების სფეროში.

თუ კი ბიოგენური მაგნიტის პრაქტიკული მიზნებით გამოყენება ამ მიმართულებით კვლევის პირველად ამოცანას წარმოადგენს, მაგნიტოტაქტიკური ბაქტერიების ცხოველმყოფელების გენეტიკური და ბიოქიმიური ასპექტების შესწავლა მეტად საინტერესოა ცოცხალი ორგანიზმების მიერ მაგნიტური ველის აღქმისა და მასთან ურთიერთქმედების მექანიზმების დასადგენად. ასევე მნიშვნელოვანია მაგნიტოტაქტიკური ბაქტერიებს შესწავლა დედამიწაზე სიციცხლის ევოლუციის გზების დასადგენად.



1. Лине де Барро Э. П., Эскуивель Д. М. С. Биогенный магнетит и магниторецепция, 2, 31—57, М., „Мир“, 1989.
2. Balkwill D. L., Maratea D., Blakemore R. P. J. Bacteriol., 141, 1399—1408, 1980.
3. Bazylnski D. A., Frankel R. B., Jannasch H. W. Nature, 334, 518—519, 1988.
4. Blakemore R. P. Science, 190, 377—379, 1975.
5. Blakemore R. P. Annu. Rev. Microbiol., 36, 217—238, 1932.
6. Blakemore R. P., Frankel R. B. Metal-microbe interactions (ED. R. K. Poole, G. M. Gadd), JRL Press, Oxford, 1989, 85—98.
7. Blakemore R. P., Maratea D., Whitefe R. S. J. Bacteriol., 140, 720—729, 1979.
8. Blakemore R. P., Short K. A., Bazylnski D. A., Rosenblatt C., Frankel R. B. Geomicrobiol. J., 4, 52—71, 1985.
9. Kalmijn A. I., Blakemore R. P. Animal migration, navigation and homing (ED. K. Schmidt—Voering, W. T. Keeton), Springer, NY, 1978. 354—355.
10. Matsunaga T., Kamija S. Appl. Microbiol., 26, 328—332, 1987.
11. Paoletti L. C., Blakemore R. P. Curr. Microbiol., 17, 339—342, 1988.
12. Towe K. M., Moench T. T., Earth Planet, Sci. Lett., 52, 213—220, 1921.

РАСПРОСТРАНЕНИЕ МАГНИТОТАКТИЧЕСКИХ МИКРООРГАНИЗМОВ В ВОДОЕМАХ ГРУЗИИ

Р. Ш. Адамия, Э. А. Матиташвили, Т. Н. Суладзе, Т. Г. Чанишвили, Т. В. Курцхалия.

НПО «Бактериофаг» им. Г. Г. Элиава, Тбилиси

Европейская молекулярно-биологическая лаборатория, Гейдельберг

Резюме

Проведен поиск магнитотактических бактерий в различных водоемах Грузии. Обнаружено, по крайней мере, пять видов магнитотактических микроорганизмов, реагирующих на магнитное поле Земли — большинство обнаруженных организмов двигается в северном направлении.

Световой и электронной микроскопией изучены морфологические характеристики этих микроорганизмов; все магнитотактические клетки содержат магнитные домены, т. н. магнитосомы. Форма, размеры и внутриклеточное количество этих органелл строго видоспецифично.

OCCURENCE OF MAGNETOTACTIC MICROORGANISMS IN WATER RESERVOIRS OF GEORGIA

R. ADAMIA, E. MATITASHVILI, T. SULADZE, T. CHANISHVILI, T. KURTSKHALIA

Scientific-Industrial Union "Bacteriophage", Tbilisi

European Molecular Biological Laboratory, Heidelberg

Summary

A search for magnetotactic bacteria was conducted in several water reservoirs of Georgia. At least five species of magnetotactic microorganisms reacting to geomagnetic field have been found. The majority of the organisms move in northern direction.

Light and electron microscopic stu-

dies of the morphological features of these microorganisms have indicated that all magnetotactic cells contain magnetic domains, so-called magnetosomes. The shape, dimensions and intracellular quantity of these organelles are species-specific.

УДК 619:57876

ВИРУСОЛОГИЯ

ВОЗМОЖНОСТЬ И ПЕРСПЕКТИВНОСТЬ ПРИГОТОВЛЕНИЯ ИНТЕРФЕРОНА С ОЧИЩЕННЫМИ ИНГРЕДИЕНТАМИ

И. И. Георгадзе, Н. В. Топурия, Л. Г. Ткемалაძე,
И. Д. Бухникашвили

НПО Бактериофаг им. Элиава, Тбилиси

Поступила в редакцию 24.04.90

Представлены результаты экспериментальных работ, указывающие на возможность и целесообразность производства препаратов интерферона с использованием очищенных ингредиентов среды.

Приготовление человеческого лейкоцитарного интерферона (ЧЛИ) и свиного лейкоцитарного интерферона (СЛИ) с использованием разных индукторов (ВБН и вируса Сендай) и белковых ростовых сред (плазма, амниотическая жидкость коров (АМЖ), полиглобулин и их комбинации) в нативном и очищенном виде показало преимущество очищенных вирусов и белкового компонента для получения активного и свободного от высокомолекулярных белковых примесей интерферона.

Согласно медико-биологическим требованиям к препаратам, применяемым в здравоохранении, интерферон не должен содержать белков аллантоиновой жидкости куриных эмбрионов и глобулиновые фракции добавляемой плазмы. В сертификате качества на ЧЛИ для интраназального применения указано, что количество общего белка не должно превышать 5,0 мг/мл. С целью уменьшения количества балластных примесей в готовом препарате интерферона используются разные методы. Наибольшее внимание обращено на его очистку [6, 7, 8, 9]. Однако получение нативного препарата интерферона с помощью заранее очищенных ингредиентов значительно перспективнее, чем очистка уже готового. В первом случае происходит минимальная нагрузка лейкомассы — продуцента интерферона — чужеродными белками, мешающими нормальному процессу биосинтеза. Такой подход способствует как получению гомогенного по белковому составу препарата, так и повышению титров противовирусной активности интерферо-

на [2, 10, 11]. Вышеизложенное было с успехом применено для биосинтеза как ЧЛИ, так и СЛИ. Следует подчеркнуть, что в случае очистки конечного продукта, препарат освобождается не только от ненужных примесей, но и теряет целый ряд биологически активных веществ, таких как γ - и β -интерфероны, интерлейкины и др. Тем более, не вызывает сомнения тот факт, что предназначенный для лечебных целей очищенный интерферон, содержит один вид интерферона и он менее активен, чем препарат, содержащий смесь интерферонов, лимфокинов, интерлейкинов, факторов переноса и других продуктов жизнедеятельности лейкоцитов и лимфоцитов.

В представленной работе приведены результаты экспериментов по продукции ЧЛИ и СЛИ с использованием очищенных ингредиентов среды для биосинтеза интерферона, а также очищенного от овальбумина и концентрированного вируса-индуктора и очищенной от гамма-глобулиновых фракций белковой ростовой добавки.

ЧЛИ готовили по Регламенту производства ЧЛИ № 302-82 [1]. СЛИ готовили по методу [4] Соловьева В. Д.

Первичные фибробласты эмбриона человека (ФЭЧ) получили из абортного материала по стандартной методике.

Противовирусную активность интерферона проверяли в ФЭЧ против

100 ЦПД₅₀ вируса везикулярного стоматита (ВВС).

Вирусы-индукторы ВБН и Сендай, а также вирус-индикатор ВВС получали культивированием в куриных эмбрионах по общепринятому методу.

Определение общего белка в препаратах проводили по методу Лоури (метод изложен в Сборнике инструкций, утвержденном приказом МЗ СССР от 13.01.83 г. № 31).

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

На первом этапе исследований был апробирован способ концентрации и очистки вируса-индуктора интерферона (ВБН и вируса Сендай). Исходные характеристики обоих вирус-индукторов представлены в табл. 1. Вирусосодержащую аллантоисную жидкость (ВАЖ) центрифугировали при 3000 об/мин, в течение 30 мин (центрифуга марки ЦЛС-3). Осадок отбрасывали, а супернатант подвергали дополнительному ультрацентрифугированию при 23000—24000 об/мин в течение 1 ч (ультрацентрифуга марки К 32-03-600 ФО). Осадок ресуспендировали в соответствующем с исходным количеством ВАЖ в среде 199 или Игла. По ходу работы были решены технические стороны метода для полного сохранения активности

вируса и получения стерильного материала. Стерильность центрифугируемого вируса можно сохранить при помощи облучения ротора и центрифужек в течение 2 ч ультрафиолетовыми лучами (иррадиатор ИФЛ-27).

Концентраты вирусов были проверены на инфекционную (в клеточной культуре) и гемагглютинирующую (ГА) активности, способность размножаться в развивающихся куриных эмбрионах, содержание общего белка. Кроме того, исследовали динамику активности при длительном низкотемпературном хранении и стерильности. Результаты биологической характеристики концентратов вирус-индукторов интерферона по перечисленным параметрам представлены в табл. 1.

Таблица 1

Результаты исследования биологической активности очищенных и концентрированных вирус-индукторов интерферона (ВБН и вируса Сендай)

Вирус-индуктор интерферона		Инфекционная активность (ЭНД ₅₀)	ГАЕ	Инфекционная активность ВАЖ, полученная пассированием концентрата	Код-но белков по Лоури	Сохранение ГАЕ в разных условиях в течение 6 месяцев			
						+4°C	-20°C	-40°C	-70°C
ВБН	Нативный ВАЖ	10 ⁸ —10 ⁹	256—512	10 ⁸ —10 ⁹	4,2±0,1	32	32—64	128	256
	очищенный и концентрированный	10 ⁸ —10 ⁹	16384	10 ⁸ —10 ⁹	1,0±0,1	8—16	512	512	16384
Сендай	нативный ВАЖ	10 ⁹ —10 ⁹	1024	10 ⁸ —10 ⁹	4,0±0,1	32—64	128	128	1024
	очищенный и концентрированный	10 ⁸ —10 ¹⁰	65536	10 ⁹ —10 ¹⁰	1,2±0,1	32	256	128	65536

Концентраты обоих вирусов в очищенном и концентрированном виде резко отличались по изученным параметрам от нативного вируса. При сопоставлении данных по сохранению активности вирусов, концентрированных по предложенному способу в условиях низкой температуры (при $+4^{\circ}\text{C}$, -20°C , -40°C и -70°C), лучшие результаты сохранности титров вируса были получены в случаях их хранения при -70°C в течение 6 месяцев.

Количество общего белка в разных пробах, содержащих вирус, изучали по методу Лоури. В очищенном и концентрированном препарате ВБН количество белка составляло $1,0 \pm 0,1$ $\mu\text{кг}/\text{мл}$, а в препарате вируса Сендай $1,2 \pm 0,1$ $\mu\text{кг}/\text{мл}$, в то время как в нативных пробах ВАЖ эти показатели составили $4,2 \pm 0,1$ $\mu\text{кг}/\text{мл}$ соответственно.

Концентрированные и очищенные вирусы имели инфекционную активность 10^8 — 10^9 ТЦД₅₀ в развивающихся куриных эмбрионах и 512 ГАЕ в аллантоисной жидкости куриных эмбрионов.

Из табл. 1 видно также, что ГА активность вируса Сендай, как в ВАЖ, так и очищенном и концентрированном состоянии, оказались выше на 2 порядка, чем у ВБН. Таким образом, очищенные и концентрированные вирус-индукторы интерферона полностью сохраняли биологическую активность при их обработке и хранении указанными методами.

На следующем этапе были апробированы разные белковые ростовые добавки, необходимые в производстве интерферона и методы их очистки от глобулиновых фракций. Были использованы следующие ростовые добавки: человеческая (очищенная и неочищенная) плазма, полиглобулин и комбинация полиглобулина с плазмой, применяемые в производстве СЛИ свиная плазма (очищенная и неочищенная), АМЖ и полиглобулин, а также комбинированная добавка полиглобулина и свиной плазмы. Для освобождения белковых ростовых сред от гамма-глобулиновых фракций на 1 л нативного материала добавляли 250 г сульфата аммония ($\text{NH}_4/2\text{SO}_4$). Смесь выдерживали 1 ч при 4°C , центрифугировали при 3000 об/мин ($1,0 \pm$

1,5 ч); Надосадочную жидкость собирали в целлофановые мешки и проводили диализ против проточной воды в течение 5 дней при 4°C . После диализа среду центрифугировали при 3000 об/мин в течение 30 мин. при 4°C , и надосадочную жидкость хранили до употребления при -20°C . Перед использованием ростовую среду оттаивали, прогревали при $53 \pm 3^{\circ}\text{C}$ в течение 30 мин и стерилизовали фильтрацией через фильтры «Millipore» (размер пор 0,22 м). После очистки с помощью подсчета жизнеспособных лейкоцитов пробы контролировали на токсичность, вводя 5—7% их к общему объему лейкомаксы, при концентрации лейкоцитов 10^7 в мл. Пробы, не дающие токсичного воздействия, замораживали до их использования. На индукцию интерферона не влияло концентрация ростовых добавок от 3,0 до 10% в суспензии лейкоцитов, в то время как отсутствие белковых компонентов приводило к резкому снижению синтеза интерферона. Во всех вариантах ростовых добавок было проверено определение количества белка и изучен спектр белкового состава по электрофорезу в ПААГ с додецилсульфатом натрия.

О пригодности каждой отдельной серии очищенной белковой среды судили по степени конечной противовирусной активности интерферона, полученного в данной среде, а также по содержанию овальбуминовых фракций ВАЖ-индуктора и гамма-глобулиновых фракций плазменных белков в готовом препарате интерферона.

Лучшие препараты ЧЛИ по указанным параметрам были получены при использовании 5% очищенной от гамма-глобулинов фракции плазмы, либо при добавке на стадии биосинтеза комбинированной ростовой среды — плазма и полиглобулин в соотношении 1:3 (в сумме 5% к общему объему).

В случае же производства СЛИ оптимальным оказалось применение АМЖ в виде белковой ростовой добавки (7% к общему объему среды). Препараты СЛИ, полученные в таких условиях, имели высокие титры противовирусной активности и были менее гетерогенны по белковому составу, в сравнении с контрольными пробами.

После подбора оптимальных вариантов ростовых добавок были определены оптимальные дозы очищенного и концентрированного вируса-индуктора. Для биосинтеза 1 мл интерфе-

как, используя выбранную дозу вируса 200 ГАЕ/мл, при титре вируса Сендай 65000—131000 ГАЕ/мл, вырабатывается 320—640 ед/мл интерферона, а при титре ВБН 16000—32000

Таблица 2

Результаты реализованных доз вируса для индукции интерферона

Доза вируса для индукции 1 мл интерферона (ГАЕ)	Активность полученного интерферона (ед/мл)	Отношение титра интерферона к дозе вируса
100	100	1,0
150	300	2,0
200	300—400	1,5—2,0
400	300—400	0,75—1,0

рона брали 100, 150, 200, и 250 ГАЕ вируса ВБН либо Сендай (табл. 2). Наилучшие результаты были получены при использовании 200 ГАЕ вируса на 1 мл взвеси лейкоцитов. Надо отметить, что при одинаковых исходных титрах геммагглютининов обоих вирусов (256—512 ГА в 1 мл), число ГАЕ в очищенном и концентрированном вирусе Сендай было гораздо выше (в среднем 65000—131000 ГАЕ/мл), чем ВБН (16000—32000 ГЕ/мл). Исходя из вышесказанного можно сказать, что при одинаковых количествах и характеристиках

ГАЕ/мл — только 80—160 ед/мл. В табл. 3 представлены результаты индукции интерферонов, как с помощью ВАЖ, так и очищенных и концентрированных индукторов. Наилучшие результаты как при индукции ЧЛИ, так и СЛИ были получены с использованием очищенного и концентрированного вируса Сендай. В экспериментальных сериях интерферона, индуцированных как ВАЖ, так и очищенными и концентрированными вирусами было изучено содержание общего количества белков. Из табл. 4 видно, что пробы интерферонов, полученные с по-

Таблица 3

Сравнительное изучение ЧЛИ и СЛИ по разным параметрам

Интерферон полученный	Активность интерферона (ед/мл)	Кол-во овального антигена (мкг/мл)	Общее кол-во белка (мкг/мл)
ЧЛИ	с неочищенными ингредиентами	100	0,25
	с очищенными ингредиентами	400	0,02
СЛИ	с неочищенными ингредиентами	800	0,25
	с очищенными ингредиентами	1600	0,03

мощью ВАЖ обоих вирусов, очищенный и концентрированный вирус Сендай резко отличается от очищенного и концентрированного вируса ВБН. Последнее имеет непосредственное значение для индукции интерферона, так

мощью очищенных и концентрированных индукторов, резко отличались от проб, приготовленных с использованием ВАЖ. Количество общего белка в препаратах интерферонов было разным и зависело от примененного индукто-



რა: При использовании нативного индуктора этот показатель в случае ЧЛИ равнялся 5,0 мкг/мл, а в случае СЛИ — 3,0 мкг/мл; в пробах, изготовленных с очищенным и концентрированным вирусом — 2 и 1 мкг/мл соответственно.

Далее, при помощи тест-системы РНГА в обоих пробах интерферона определяли наличие овальбуминового антигена. В экспериментальных сериях ЧЛИ его количество составляло от 0,02 до 0,05 мкг/мл, в контрольной — 0,25 мкг/мл; а в СЛИ — 0,03 мкг/мл, (в контрольной пробе 0,25 мкг/мл).

Как показано в табл. 3, противовирусная активность ЧЛИ, приготовленного с очищенными ингредиентами, составляла 400 ед/мл, а в контрольных пробах интерферона (получено

по Регламенту № 302-82) — 100 ед/мл. Аналогичное соотношение было получено при определении активности СЛИ (пробы с очищенными ингредиентами имели активность 1600 ед/мл, контрольные — 800 ед/мл).

Таким образом, показана перспективность производства препарата интерферона с помощью очищенных ингредиентов среды (вирусы индуктора и белкового ростового компонента), применяемых в процессе биосинтеза интерферона. Полученный таким образом препарат обладает более высокой биологической активностью и свободен от примесей ненужных белков, т. е. гамма-глобулиновых фракций плазмы и овальбуминов аллантоисной жидкости куриных эмбрионов.

ЛИТЕРАТУРА

1. Кузнецов В. П., Гриценко Л. И., Кузьмичева Г. И. Производство человеческого лейкоцитарного интерферона № 302—82 М, 1982.
2. Мерабишвили Л. Г. Научные основы производства плаферона (интерферона, синтезированного клетками амниотической оболочки плаценты человека) и изучения его иммуно-биологических свойств, Автореф. докт. дисс., М., 1989.
3. Смородицвев А. А., Иовлев В. И., Степанов А. Н. Вирусология, 13, 71—79, 1987.
4. Соловьев В. Д., Огарков В. И., Марченко В. И. Вopr. вирусологии, 5, 1980, 521—525.
5. Топурия Н. В., Георгадзе И. И.

Мат. Всес. сипм., посвященного 60-летию Тбил. НИИВС, Тбилиси, 1984, 626—628.

6. Berg K., Heron A. Scand. j. Immunol., 11 5,5, 489—502, 1980.
7. Carter W. A., Horoszewicz A. S. Pharm. and Ther., 8, 2, 359—377, 1980.
8. Horoszewicz S., Dolen L., Holvoke E. Arch. med. enzymol., 278—289, 1979.
9. Mees I., Toth S., Endresz V. Acta Microbiol., 35, 140—144, 1988.
10. Pestka S. Arch. Biochem. Biophys., 78, 414—539, 1981.
11. Rubinstein M., Levy W., Moshera S. Arch. Biochem. Biophys., 210, 1, 307—318, 1981.

გაწმენდილი ინტერფერონით ინტერფერონის მომზადების შესაძლებლობა და პერსპექტიულობა

ი. ზაორბაძე, ნ. თოფურია, ლ. ტყეშელაშვილი, ი. ზუზუნიაშვილი
 გ. ელიაშვილი სახელობის სსკ „ბაქტერიოფაგი“, თბილისი

რეზიუმე

ნაჩვენებია პრეპარატ ინტერფერონის წარმოების შესაძლებლობა წინასწარ გაწმენდილი ინტერფერენტებით. ინტერფერონოგენურიებისას გამოიყენებოდა ოვალბუმინის ფრაქციებისაგან გაწმენდილი და კონცენტრირებული ვირუს-ინდუქტორი

და გლობულინის ფრაქციისაგან თავისუფალი პლაზმა, რაც საშუალებას გვაძლევს მივიღოთ უცხო ცილებისაგან თავისუფალი, მაღალ აქტიური და ეფექტური სამკურნალო პრეპარატი ინტერფერონი.

POSSIBILITY AND PERSPECTIVE OF INTERFERON PRODUCTION
FROM PURIFIED INGREDIENTS



I. GEORGADZE, N. TOPURIA, L. TKEMALADZE, I. BUKHNIKASHVILI

G. Eliava SIA "Bacteriophage", Tbilisi

S u m m a r y

Possibility and perspective of interferon production with purified ingredients were shown. Purification and concentration of medium ingredients, used in interferogenesis (purification of allantois virus-inductor from ovalbumin

fractions and of globulin fractions of plasma protein growth additions) give the opportunity to produce more active and effective medical preparation-interferon, homogenous of albuminous composition.

UDC 612.017.1 (479.22)

IMMUNOLOGY

NATURAL KILLER CELLS AND INTERLEUKIN-2-ACTIVATED KILLER CELLS IN HEALTHY INDIVIDUALS AND LEUKEMIC PATIENTS. CORRELATION WITH HLA COMPLEX

N. MAKHATADZE, D. GIRDALADZE, Ts. GELIKASHVILI, J. MAKHATADZE

G. Mukhadze Research Institute of Hematology and Blood Transfusion, Tbilisi

Excepted in 19.11.01

Natural killer (NK) cells and lymphokine-Interleukin-2-activated killer (LAK) cells activity were determined in two groups (newly diagnosed, or before treatment chronic lymphocytic leukemia patients and healthy control) by ^51Cr release assay. The erythroleukemia line K-562 was used as a target cell.

In all cases HLA—A, B, C, DR typing was performed.

No statistically significant difference in average NK and LAK cell activity was observed among these two groups. Our data do not correspond to that previously reported in literature. HLA antigens typing of chronic lymphocytic leukemia (CLL) patients showed an increase in the frequency of HLA-A10 ($p < 0.00025$), HLA-B 40 ($p < 0.0005$) antigens. These data suggest that it may be a gene, within the human major histocompatibility complex which is relevant in CLL development.

Natural killer (NK) cells are a distinct population of non B, non T lymphoid cells that possess the ability to quickly identify and lyse a large variety of tumor or infected cells, without the need for antibody or previous interaction with the target. NK cells have also been identified as modulators and regulators of the immune response, particularly in controlling antibody responses [19, 2, 7, 9, 16]. Most NK cells are characterized morphologically as large granular lymphocytes and by using the monoclonal antibodies Leu 7 and Leu 11 b, four subsets of NK cells with varying cytotoxic potential have been identified [11].

NK cells are now thought to play an important role in host defense against the development and metastatic spread of

malignant neoplasms. This is suggested by experimental data [8, 15, 18, 20] and by the observation that persons with depressed NK cell function seem to have an increased risk for development of lymphoproliferative malignancies [10]. Recently, decreased NK cell activity in adults and children with leukemia has been demonstrated [12, 13, 14]. However, it is unclear whether the observed impaired NK cell function predisposed these patients to the development of leukemia or whether it was a consequence of the disease [3].

As E. Lotzova 1987 describes, analysis of the mechanism of NK cell defect demonstrated that NK cells of leukemic patients were impaired in their tumour-binding and lytic activity and did not display ability to recycle or to produce



cytotoxic factor. However, deficient NK activity could be corrected by culture of peripheral blood effector cells with interleukin-2 (IL-2). IL-2 activated NK cells manifested restoration of all measured parameters of the cytotoxic mechanism, as exemplified by normalized tumor-binding and lytic activity, as well as the rate of lysis and ability

to recycle. NK activity was also induced in the leukemic bone marrow, a tissue with a very low frequency of cytotoxic NK cells [12, 13].

In the present study we tested the NK and IL-2-activated killer (LAK) cells activity in healthy donors and adult leukemic patients. HLA antigens typing was performed in all cases.

MATERIAL AND METHODS

Forty eight healthy persons blood donors and forty two patients with lymphocytic leukemia were studied. All patients were 55-72 years of age treated at the dispensary department of Georgian Research Institute of Hematology and Blood Transfusion. Peripheral blood (PB) was obtained mostly at the time of diagnosis or before treatment. Blood was drawn into heparinized tubes. Peripheral blood mononuclear cells from normal donors and leukemic patients were isolated by density centrifugation on Ficoll Hypaque. Cells were washed three times with Hank's balanced solution and resuspended in culture medium consisting of RPMI 1640, supplemented with 10% fetal calf serum, 2mM L glutamine and antibiotics. NK and LAK cells ac-

tivity in healthy donors and leukemic patients was measured by standard four-hour ^{51}Cr release assay with effector-to-targets ratio of 50:1 and 25:1 [4, 17]. The NK-sensitive myeloid leukemia cell line were cultured in culture medium and used as targets.

LAK cells were generated by incubation of the PB mononuclear cells in culture medium (at 1×10^6 cells/ml concentration) with 8000 u/ml of recombinant IL-2 (Cetus Corporation, USA). The cultures were incubated for 4 days at 37°C in humidified atmosphere of 5% CO_2 in air [4, 5, 17]. HLA-A, B, C, DR typing was performed by NIH two-stage microlymphocytotoxicity assay.

RESULTS AND DISCUSSION

Average NK cell cytotoxicity against K-562 targets in the control population was $52,64 \pm 6,57\%$ (range 14,2 to 95,1%) (E:T, 25:1). As shown in table 1, average NK cell activity in Chronic leukemia patients (CLL) was $42,4 \pm 5,60\%$. No statistically significant difference in average NK cell activity was observed among these two groups. Our data do not correspond to that reported by E. Lotzova et al. [12, 13]. Average LAK cell activity in the healthy control group ($92,63 \pm 11,29\%$) was significantly higher ($P < 0,01$) than NK cell activity in that group ($52,64 \pm 6,57\%$) against K-562 cells (table 1).

In leukemic patients the difference between NK cell cytotoxicity ($42,40 \pm 5,60\%$) and LAK cell activity ($71,0 \pm 8,47\%$) was also significant ($P < 0,02$).

Despite negligible lowering of NK and LAK cell activity in leukemic patients in comparison with healthy control group the differences were not statistically significant.

These results are quite important from a clinical as well as from a scientific standpoint. Of clinical interest is the observation that patients with chronic lymphocytic leukemia before treatment manifest almost normal NK cell cytotoxicity against NK sensitive K-562 myeloid leukemia cell line.

Cytotoxicity against K-562 cells (%) (E : T, 25 : 1)

Healthy control			CLL		
test No	NK n=13	LAK n=14	test No	NK n=21	LAK n=12
1	73,6	43,0	1	51,4	—
2	—	35,0	2	31,2	—
3	50,9	87,6	3	30,0	—
4	49,1	—	4	28,0	—
5	58,7	83,0	5	55,9	—
6	31,2	114,1	6	80,4	64,9
7	—	159,7	7	14,5	120,3
8	95,1	141,1	8	48,4	63,4
9	76,4	129,6	9	6,1	74,9
10	62,8	113,4	10	89,8	—
11	14,2	106,5	11	83,9	—
12	19,6	22,2	12	—	87,2
13	59,1	64,5	13	—	119,9
14	64,8	131,8	14	9,0	59,7
15	28,9	65,4	15	74,0	87,1
			16	65,0	25,0
			17	11,9	61,9
			18	51,7	55,2
			19	35,1	33,0
			20	28,0	—
			21	52,1	—
			22	28,7	—
			23	15,6	—
average	52,64±6,57*	92,63±11,29*		42,40±5,6**	71,0±8,47**

*P<0,01, **P<0,02.

Incubation of PB lymphocytes of leukemic patients with recombinant IL-2 led to augmentation of cytotoxic activity against target cells K-562. In light of the implication of NK cells in resis-

tance to leukemia we can suppose that high level of NK cells cytotoxicity in patients with CLL may contribute to benign development of the disease.

To investigate, if there is immunoge-

HLA—A, — B antigens distribution in healthy control and CLL patients (%)

Table 2

HLA antigens	CLL n=42	Control group n=492	HLA antigens	CLL n=42	Control group n=492
A 1	9,52	9,76	B 13	9,52	9,33
A 2	59,52	57,32	B 14	2,38	4,47
A 3	26,19	22,36	B 15	7,14	8,13
A 9	26,19	25,81	B 16	4,76	5,49
A 10	38,09*	16,46*	B 17	0	4,27
A 11	2,38	8,33	B 18	2,38	2,84
A _w 19	2,38	6,30	B 21	2,38	3,86
B 5	40,48	33,74	B 27	4,76	3,86
B 7	9,52	14,43	B 35	19,04	26,83
B 8	2,38	8,13	B 40	11,90**	2,64**
B 12	9,52	11,79			

* P<0,00025, $\chi^2=13,68$, Relative risk (RR)=3,13

**P<0,0000, $5\chi^2=13,23$, RR=5,21



netic predisposition to CLL above different tests performed to characterize the immune status of CLL patients (data not shown) in all cases we performed also HLA—A, B, C, DR typing. The most striking difference in HLA antigens distribution among georgian CLL patients and healthy control [1] was significant HLA — A10 and B40 antigens increase in CLL patients (38,09% v. s. 16,4% in control group $P < 0,00025$, RR-3,13 and 11,90% v. s. 2,64%,

$P < 0,0005$, RR = 5,21 respectively) (table 2). The present results reveal an association between HLA — A10, B40 antigens and CLL in Georgian population.

We presume that the pathogenesis of CLL is multifactorial but it is possible that there is a gene within the Human major histocompatibility complex which is relevant in peculiarity of immune response in leukemic patients.

REFERENCES

1. Makhataдзе, N. J., Meunargia V. V., Iazdovski V. V., Chagiashvili Ts. N. Proc. Acad. of Science of Georgian SSR, 12, 2, 135—136, 1986.
2. Abruzzi L. V., Rovley D. A. Science, 222, 581—585, 1983.
3. Alvarado C. S., Findley H. W., Chan W. C. Cancer, 63, 83—89, 1989.
4. Atzpodien J., Gulati S. C., Kwon J. H. Exp. Cell. Biol., 56, 236—244, 1988.
5. Beldegrun A., Uppenkamp I., Rosenberg S. J. Urology, 139, 150—155, 1988.
6. Callenwaert D. D., Smeekens S. P., Mahle N. H. J. Immunol. Meth., 49, 25—37, 1983.
7. Cudkowicz G., Hochman P. S. Immunol. Rev., 44, 13—41, 1979.
8. Haliots T., Doder J., Dexter D. New York: Acad. Press, 1399—1404 1982.
9. Hanson M., Beran M., Anderson B., Riessling R. J. Immunol., 129, 126—432, 1982.
10. Herberman R. B. Transpl. proceed., 16, 476—478, 1984.
11. Lanier L. L., Le A. M., Phillips J. H. J. Immunol., 131 1789—1796, 1983.
12. Lotzova E., Cancer Bull., 39, 30—38, 1987.
13. Lotzova E., Savary C. A., Herberman R. B. J. Immunol., 138, 2718—2727, 1987.
14. Mageed A. A., Findley H. W., Franco C. Cancer, 60, 2913—2918, 1987.
15. Minato N., Bloom B. R., Jones C., Holland J., Reid L. M. J. Exp. Med., 149, 1117—1133, 1979.
16. Nabel G., Allard W. J., Cantor H. J. Exp. Med., 156, 658—663, 1982.
17. Pross H. F., Maroun J. A. J. Immunol. Meth., 68, 235—249, 1984.
18. Roder J. C., Lohmann—Matthes M., Domzing W., Wigzell H. J. Immunol., 123, 2174—2181, 1979.
19. Schatner A., Duggan D. B. Amer. J. Hematol., 18, 435—442, 1985.
20. Schattner A., Rager-Zisman B., Bloom B. R. Cell Immunol., 90, 103—114, 1985.

ჯანსაღთა და ქრონიკულ ლიმფოლიმფომათა ავადმყოფთა ბუნებრივი და ლიმფოკინატივირებული კილეების აპტირება. HLA კომპლექსთან ურთიერთკავშირი

ნ. მახათაძე, ღ. ღირდალაძე, ც. ზელიკაშვილი, ი. მახათაძე

საქართველოს რესპუბლიკის ჯანდაცვის და სოცულურენველურების სამინისტროს გ. შუხაძის სახელობის პედატოლოგიისა და სისხლის გადასხმის სამეცნიერო-კვლევითი ინსტიტუტი, თბილისი

რეზიუმე

წარმოდგენილია ქართული ეროვნების ჯანსაღთა და ქრონიკულ ლიმფოლიმფოზიან ავადმყოფთა ბუნებრივი კილეების

(ბკ) და ლიმფოკინ-ინტერლეიკინ-2-ის აქტივირებული უკრედ-კილეების (ლაკ) კვლევის შედეგები. კვლევისათვის საჭი-



რო სისხლს ავადმყოფებს ვუღებდით მკურნალობის დაწყებამდე. ბკ და ლაკ აქტივობის განსაზღვრა ხდებოდა 4-საათიანი ხანგრძლივობის მემბრანოტოქსიურ ტესტში K-562 სამიზნე უჯრედების ^{51}Cr -თან ერთად გამოყენებით.

ლიტერატურის მონაცემებისაგან განსხვავებით, ორ გამოკვლეულ ჯგუფში არ გამოვლინდა ბკ და ლაკ აქტივობას შორის მნიშვნელოვანი სხვაობა. HLA კომ-

პლექსის ანტიგენების გამოკვლევაში კონტროლოსთან შედარებით, გვიწვევს ანტიგენების A 10 და B 40-ის სისხშირის მნიშვნელოვანი ზრდა. ეს მონაცემები მიუთითებენ იმაზე, რომ ჰისტოშეთავსების მთავარ კომპლექსში შეიძლება იყოს გენი ან გენები, რომლებიც ქრონიკულ ლიმფოლიეოზთან ავადმყოფებში აკონტროლებენ იმუნორეაქტივობის გარკვეულ დონეს.

АКТИВНОСТЬ ЕСТЕСТВЕННЫХ И ЛИМФОКИНАКТИВИРОВАННЫХ КЛЕТОК КИЛЛЕРОВ У ЗДОРОВЫХ ЛИЦ И БОЛЬНЫХ ХРОНИЧЕСКИМ ЛИМФОЛЕЙКОЗОМ. ВЗАИМОСВЯЗЬ С КОМПЛЕКСОМ HLA

Н. И. Махатадзе, Д. М. Гирдаладзе, Ц. Ш. Геликашвили, И. К. Махатадзе

НИИ гематологии и переливания крови Министерства здравоохранения и содействия Республики Грузия, Тбилиси

Резюме

Представлены результаты исследования активности клеток естественных киллеров (ЕК) и лимфокин-интерлейкин-2-активированных клеток киллеров (ЛАК) у здоровых лиц грузинской национальности и больных хроническим лимфолейкозом (ХЛЛ). Кровь для исследования у больных забиралась до начала лечения. Изучение ЕК и ЛАК активности проводилось в мембранотоксическом 4-часовом тесте с использованием ^{51}Cr и, в качестве мишени, K-562 клеток. Существенных различий в уровне ак-

тивности ЕК и ЛАК в двух исследованных группах, в отличие от приведенных в литературе данных, не выявлено. Типирование антигенов комплекса HLA у больных ХЛЛ выявило значительное, в отличие от контрольной группы, увеличение частоты антигенов HLA-A10 и B40. Полученные результаты могут свидетельствовать о наличии в главном комплексе гистосовместимости человека гена или генов, контролирующих определенный уровень иммунореактивности организма у больных ХЛЛ.

УДК 577.3 : 591.104 : 612.813

БИОФИЗИКА

КЛЕТОЧНО-АВТОМАТНАЯ МОДЕЛЬ МЕМБРАНЫ НЕЙРОНА

А. Х. Гиоргадзе, В. Б. Парцвания, Т. Л. Джебашвили

Институт кибернетики АН Грузии, Тбилиси

Поступила в редакцию 06.06.90

Свойства каналов мембраны нейрона отображаются на клетках клеточного автомата. Выбор шаблона соседства зависит от множества тех каналов, вектор состояний которых влияет на состояние отдельного канала. Вводится вероятностная локальная функция, определяющая функционирование модели.

Клеточные автоматы (КА) являются удобным математическим аппаратом в таких задачах моделирования, когда общее сложное поведение изучаемой системы является «сложением» поведений большого числа однородным образом взаимодействующих друг с другом «простых» элементов. Многие объекты живой природы [3], в том числе мембрана нейрона, обладают клеточной структурой, достаточно хорошо описываемой клеточно-автоматными моделями. Модели, как правило, строятся по следующей схеме: изучение объекта исследования, построение автоматной модели отдельных элементов (клеток), построение общей модели — введение структуры (связей между клетками). Далее следует извлечение из модели полезной информации. Это можно осуществить двойным образом — реализация различных машинных экспериментов и получение непосредственно из модели некоторых теоретических данных.

Мембрана нервной клетки представляется собой бислой липидных молекул со встроенными в них белковыми молекулами. Эти белки образуют поры, называемые каналами, пронизывающие всю толщу мембраны. Каждый канал может находиться по крайней мере в двух состояниях — открытом и закрытом. Открытие и закрытие канала — потенциалозависимые процессы. Элементарный процесс от-

крывания канала является недетерминированным [1], что позволяет говорить о множестве других состояний, открытого и закрытого канала. Часть ионов проходит через канал по электрохимическому градиенту. Приход стимулирующего сигнала, например воздействие ацетилхолином [2], вызывает открытие довольно большого числа каналов. Это приводит к уменьшению разности потенциалов на данном участке мембраны. Если эта разность потенциалов превысит пороговое значение, то открытие других каналов произойдет как цепная реакция, и возбуждение в виде волны открывания больших массивов каналов распространится по всей поверхности мембраны. В случае, когда разность потенциалов на этом участке мембраны не достигает порогового значения, возбуждение будет локализовано вокруг места прихода стимулов.

Клеточный автомат есть четверка $A = (Z^2, S, N, S)$, где Z^2 — система целочисленных координат в плоскости; каждый элемент Z^2 называется клеткой; все клетки (автоматы) идентичны; S — множество состояний клетки; $N = \{\alpha_1, \alpha_2, \dots, \alpha_n\}$ — подмножество Z^2 , определяющее для каждой клетки $x \in Z^2$ ее соседей. Соседними для клетки x являются клетки $x + \alpha_1, \dots, x + \alpha_n$, включая саму клетку x , где $x + \alpha$ поэлементное сложение векторов. f является



отображением $S^n \rightarrow S$ и называется локальной функцией переходов. Она определяет состояние клетки x в такте t в зависимости от состояний клетки x и состояний ее соседей в такте $t-1$. Введем $\alpha_0, \alpha_1, \dots, \alpha_m$ — состояния канала (клетки), где α_j — целые положительные числа, характеризующие величину ионного тока через канал или степень открывания канала. Введем две модели. В первой (детерминистической) модели состояние клетки x зависит от суммы состояний соседних клеток и самой клетки. Обозначим эту сумму через α' . Вводится некоторое пороговое число a . Если $\frac{\alpha'}{n+1} \geq d$, то состоянием клетки x в следующем такте объявляется состояние полностью открытого канала. Если $\frac{\alpha'}{n+1} < d$, то состоянием клетки x объявляется число $\alpha_j = \min \left(\frac{\alpha'}{n+1} - \alpha_i \right)$, $i, j = 1, m$. Выбор шаблона соседства N определяется конкретной моделью.

Вторая модель. Пусть клетка x в такте t находится в состоянии $\alpha(x)$, а соседние с ней клетки x^1, x^2, \dots, x^n в состояниях $\alpha(x^1), \dots, \alpha(x^n)$. Вычисляется $\alpha' = \alpha(x) + \alpha(x^1) + \dots + \alpha(x^n)$, вводится пороговая величина d . Известно [1], что после открывания канала до некоторой степени, определяющей α_j , наблюдается случайная серия состояний α_j и α . Поэтому если τ есть время между тактами, в которых рассматривается клетка x , существует некоторая зависящая от τ и α_j вероятность того, что состояние

клетки будет либо α_j , либо α . Обозначим эту вероятность через $p(\tau, \alpha_j)$. Величина α_j определяется в первой модели как $\alpha(x) = \alpha_0$, если $\frac{\alpha'}{n+1} \geq d$ и $\alpha(x) = \alpha_j$ в противном случае. Разыгрывается вероятность $p(\tau, \alpha_j)$, $\alpha_j \in S$, и клетке x приписывается либо состояние α_j , либо α_m .

В плоскости Z^2 рассмотрим конечный квадрат T со сторонами, образованными точками из Z^2 . Начальная конфигурация T (конфигурация в начальный момент времени t_0) определяется приписыванием каждой клетке T некоторого состояния $\alpha \in S$. В квадрате T выделяется некоторая область T' . Пусть в некотором такте t все клетки T' оказываются в состоянии α_0 . Тогда мы будем говорить, что мембрана нейрона возбуждена. Ясно, что вероятность возбуждения мембраны в такте t будет зависеть от начальной конфигурации (при фиксированной области T') КА, локальная функция которого определена, например, как в первой модели. Может оказаться так, что будет существовать некоторое критическое число клеток, состояние которых отличается от α_m и такое, что какое бы начальное распределение мы не взяли в T , с учетом этого числа, вероятность возбуждения мембраны не будет превышать заданного значения.

Мы можем заключить, что возбуждение мембраны представляет собой следствие некоторого перколяционного процесса [3], изучение которого требует рассмотрения различных конкретных моделей по общей схеме, предложенной нами.

ЛИТЕРАТУРА

1. Дефелле Л. Дж., Джон Р. В сб.: Регистрация одиночных каналов, «Мир», М., 1987, 410—435.
2. Магура И. С. Проблемы электрической возбудимости нейрональной мембраны, «Наукова думка», Киев, 1981.
3. Решодько А. В., Колрж П., Грит И. Клеточные автоматы и клеточные биологические системы, «Кибернетика», М., 1977.

ნეირონის მემბრანის უჯრედულ-ავტომატური მოდელი

ა. გიორგაძე, ბ. ფარცვანია, თ. ჯეზაშვილი

საქართველოს მეცნიერებათა აკადემიის ციბერნეტიკის ინსტიტუტი, თბილისი

რ ე ზ ი უ მ ე

ნეირონის მემბრანის იონური არხების თვისებები აღწერილ იქნა უჯრედული ავტომატის მეშვეობით. მეზობლობის შაბლონის არჩევა დამოკიდებულია იმ არხების ერთობლიობაზე, რომელთა მდგომარეობის ვექტორი ზემოქმედებს მოცემულ ცალკეულ არხის მდგომარეობაზე. შემოღებულია ალბათური ლოკალური ფუნქცია, რომელიც განსაზღვრავს მოდელის ფუნქციონირებას.

რეობის ვექტორი ზემოქმედებს მოცემულ ცალკეულ არხის მდგომარეობაზე. შემოღებულია ალბათური ლოკალური ფუნქცია, რომელიც განსაზღვრავს მოდელის ფუნქციონირებას.

CELLULAR AUTOMATION MODEL OF NEURON MEMBRANE

A. GIORGADZE, B. PARTSVANIA, T. JEBASHVILI

Institute of Cybernetic of Georgian Academy of Sciences, Tbilisi

S u m m a r y

A cell of the model describes a neuron membrane channel. The choice of neighbourhood template depends upon

the character of channels. Threshold probabilistic local function is introduced.

Известия АН Грузии, серия биологическая
(на грузинском, русском и английском языках)

Корректор Д. Р. Арчвадзе

Сдано в набор 15.07.91; Подписано в печать 26.11.91.
Формат бумаги $70 \times 108^{1/16}$. Бумага № 1. Высокая печать.
6,3 усл.-печ. л. 7,23 кр.-отт. 4,3 уч.-изд. л.
Тираж 1000 экз. Заказ 1726.
Цена 1 руб.

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

საქართველოს მეცნ. აკადემიის სტამბა, თბილისი, 380060, კუტუზოვის ქ. 19
Типография АН Грузии, Тбилиси, 380060, ул. Кутузова, 19

Цена 1 руб.

619/
17

Индекс 76204



ISSN - 0321-1665 Изв. АН Грузии, сер. биологическая, 1991, т.17, №, 361-432