

784-ბ/
1978/2

7 24



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

ბიოლოგიის

სერია
СЕРИЯ

БИОЛОГИЧЕСКАЯ

1978 №6

თბილისი
ТБИЛИСИ
TBILISI

ჰომი
TOM
VOL.

4

BIOLOGICAL SERIES

СПИСОК РАЗДЕЛОВ БИОЛОГИИ,
ПО КОТОРЫМ ПРИНИМАЮТСЯ СТАТЬИ

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

საქართველოს სსრ მეცნიერებათა აკადემიის მაცნე
ИЗВЕСТИЯ АКАДЕМИИ НАУК ГРУЗИНСКОЙ ССР



ბიოლოგიის სერია СЕРИЯ БИОЛОГИЧЕСКАЯ

ტომი 4, № 6
Том 4, № 6

ჟურნალი დაარსებულია 1975 წელს
Журнал основан в 1975 году

გამოდის წელიწადში 6-ჯერ
Выходит 6 раз в год

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

კ. შარტავის ს.ბ. სსრ
სახელმწიფო რ. სტუდენტ.
ბიბლიოთეკა

10657



სარედაქციო კოლეგია:

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

ლ. გაბუნია, ს. დურშიშიძე, მ. წალიშვილი, გ. თუმანიშვილი, ი. თუმაჩანოვი,
გ. კანდელაკი, ნ. კეცხოველი, კ. ნადარეიშვილი, ბ. ქომეთიანი, ბ. უურაშვილი,
ნ. ძმინშვილი, თ. ჭანიშვილი, შ. ჭანიშვილი, ნ. ჭავჭავაძე
პასუხისმგებელი მდივანი ს. ლაბაძე

РЕДАКЦИОННАЯ КОЛЛЕГИЯ:

Главный редактор В. М. Окуджава
Зам. главного редактора Т. Н. Оннани
Ученый секретарь Г. Л. Бекая

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

EDITORIAL BOARD:

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

© Известия АН ГССР
Серия биологическая, 1978

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

Сдано в набор 24.10.1978; Подписано к печати 22.12.1978; Формат бумаги
70×108¹/₁₆; Бумага № 1; Печатных л. 8,40; Уч.-издат. л. 7,17;
УЭ 12558; Тираж 1300; Заказ 3330;
Цена 70 коп.

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

საჭ. სსრ მეცნ. აკადემიის სტამბა, თბილისი, 380060, კუტუზოვის ქ., 19
Типография АН Груз. ССР, Тбилиси, 380060, ул. Кутузова, 19

СОДЕРЖАНИЕ — შიგნაგისი — CONTENTS

- Ю. А. Глейзер, Г. Г. Бочоришвили, А. Я. Ванинский. Деконволюционный анализ ангиоенограмм в оценке транспорта ^{99m}Tc -ДТПА при неизменной функции почек 485
- o. გლეიზერი, გ. ბოქორიშვილი, ა. ვანინსკი. ანგიორენოგრამების დეკონვოლუციური ანალიზი ^{99m}Tc -დტპა-ს ტრანსპორტის შეფასებაში თირკმლის შეუცვლელი ფუნქციის დროს
- I. J. Gleizer, G. G. Bochorishvili, A. J. Vaninski. Deconvolution analysis of angiorenograms in the assessment of ^{99m}Tc -DTPA transport in the kidney with normal function
- Н. М. Гиоргобиани, П. В. Челидзе. Исследование соотношения различных форм хроматина посредством построения кривых гидролиза 493
- ნ. გიორგობიანი, პ. ჯელიძე. ქრომატინის სხვადასხვა ფორმების შეფარდების შესწავლა ჰიდროლიზის პროდუქტების მეშვეობით
- N. M. Giorgobiani, P. V. Chelidze. Interrelations of different forms of chromatin as studied by construction of hydrolysis curves
- А. Н. Шутко, Н. Н. Шатинина, Л. П. Екимова. Нуклеазная активность клеток, взаимодействующих с экзогенной ДНК 503
- ა. შუტკო, ნ. შატინინა, ლ. ეკიმოვა. ეგზოგენურ დნმ-თან ურთიერთმოქმედი უჯრედების ნუკლეაზური აქტივობა
- A. N. Shutko, N. N. Shatinina, L. P. Ekimova. Nuclease activity of cells interacting with exogenous DNA
- Е. Э. Клейн, И. С. Чоговадзе. Идентификация фракции белков синапсомембранных мембран, связанной с явлениями памяти 509
- ე. კლეინი, ი. ჩოგოვაძე. მესიერების მოვლენასთან დაკავშირებული სინაპტოსომალური მემბრანების ერთ-ერთი ცილის ფრაქციის იდენტიფიკაცია
- H. E. Klein, I. S. Chogovadze. Identification of protein fraction from synaptosomal membranes related with memory
- С. И. Табагари, Ю. А. Григорян, А. Ш. Эбралидзе. Активность кислых гидролаз в разных органах при ишемическом поражении сердечной мышцы в эксперименте 516
- ს. თაბაგარი, ი. გრიგორიანი, ა. ებრალიძე. სხვადასხვა ორგანოებში ზოგიერთი მჟავა ჰიდროლაზების აქტივობა გულის კუნთის იშემიური დაზიანების დროს
- S. I. Tabagari, I. A. Grigorian, A. Sh. Ebralidze. Acid hydrolase activity of various organs during experimental myocardial ischemia
- Л. Я. Абашидзе. Изменчивость плюсок восточного бука (*Fagus orientalis Lipsky*) в различных частях его ареала 522
- ლ. აბაშიძე. აღმოსავლეთის წიფლის (*Fagus orientalis Lipsky*) ნაყოფის ბუდის ცვალებადობა მისი არეალის სხვადასხვა ნაწილში
- L. I. Abashidze. Changes of eastern beech (*Fagus orientalis Lipsky*) cupula in different parts of its habitat
- Н. И. Бурчак-Абрамович. История развития орнитофауны Грузии и прилегающих местностей (третичный период) 529
- ნ. ბურჩაკ-აბრამოვიჩი. საქართველოს და მისი მოსაზღვრე უბნების მესამეული პერიოდის ორნითოფაუნის განვითარების ისტორია
- N. I. Burchak-Abramovich. History of the development of tertiary birds in Georgia and in adjacent countries
- Д. Т. Патараия, Ц. С. Турманидзе, Д. А. Долидзе. Биологические свойства актиномицета—продуцента протеолитических ферментов 536
- დ. პატარაია, ც. თურმანიძე, ჯ. დოლიძე. პროტეოლიზური ფერმენტების პროდუცენთ-აქტინომიცეტების ბიოლოგიური თვისებები
- D. Th. Pataraiia, Ts. S. Turmanidze, D. A. Dolidze. Biological properties of actinomyces-producer proteolytic enzymes

Д. И. Сахвадзе, М. Ш. Гвилава, Н. Д. Керкадзе. Распространение микроорганизмов в рудах и продуктах обогащения Чиатурского месторождения 542

ლ. სახვაძე, მ. გვილავეა, ნ. ქერქაძე. მიკროორგანიზმთა გავრცელება ჰიათურის საბადოს მადნებსა და წარმოების პროდუქტებში

L. I. Sakhvadze, M. Sh. Gvilava, N. D. Kerkadze. Spreading of microorganisms in different ores and products of enrichment of Chiatura deposit

М. Г. Урушадзе, Е. В. Мирианашвили, М. В. Чхиквишвили, Л. М. Мумладзе. Синтез витаминов группы «В» некоторыми представителями рода *Penicillium* 550

მ. ურუშაძე, ე. მირიანაშვილი, მ. ჩხიკვიშვილი, ლ. მუმლაძე. В გუფის ვიტამინების სინთეზი *Penicillium*-ის გვარის ზოგიერთი წარმომადგენლის მიერ

M. G. Urushadze, E. V. Mirianashvili, M. V. Chkhikvishvili, L. M. Mumladze. Synthesis of vitamins of group „B” by some *Penicillium* representatives

И. И. Георгадзе, Т. Г. Чанишвили, А. И. Когновицкая, З. И. Алавидзе, Т. Г. Орлова, Т. В. Биркадзе. Исследование интерферогенной активности бактериофага MS2 557

ი. გორგაძე, თ. ჯანიშვილი, ა. კოგნოვიცკაია, ზ. ალავეძე, ტ. ორლოვა, თ. ბირკაძე. ბაქტერიოფაგ MS2 ინტერფეროგენული თვისებების შესწავლა

I. I. Georgadze, T. G. Chanishvili, A. I. Kognovitskaya, Z. I. Alavidze, T. G. Orlova, T. Birkadze. Study of the interferogenic activity of phage MS2

М. А. Брегадзе. Изучение бляшкообразующих клеток в периферической крови у облученных морских свинок 563

მ. ბრეგაძე. დასხივებული ზღვის გოჭის პერიფერიულ სისხლში ბალთისწარმოქმნელ უჯრედთა შესწავლა

M. A. Bregadze. Study of the plaque-forming cells in the peripheral blood of the irradiated guinea pig

М. Ш. Симонидзе, Н. Ш. Надирашвили, М. Д. Шустина, В. Я. Фурман, Р. М. Купатадзе, Ф. О. Шрайбман, М. М. Заалишвили. Влияние додецилсульфата натрия на α-актинин скелетной мышцы кролика 569

მ. სიმონიძე, ნ. ნადირაშვილი, მ. შუსტინა, ვ. ფურმანი, რ. კუპაძე, თ. შრაიბმანი, მ. ზაალიშვილი. ნატრიუმის დოდეცილსულფატის მოქმედება შინაური კურდღლის ცილა α-აქტინინზე

M. Sh. Simonidze, N. Sh. Nadirashvili, M. D. Shustina, V. Ya. Furman, R. M. Kupatadze, F. O. Shraibman, M. M. Zaalishvili. Effect of sodium dodecylsulphate on α-actinin from rabbit skeletal muscle

**Хроника
ქრონიკა
Chron cle**

А. Г. Корели. Симпозиум «Нейрофизиологические механизмы эпилепсии» 574

ა. გორელი. სიმპოზიუმი „ეპილეფსიის ნეიროფიზიოლოგიური მექანიზმები“

Указатель авторов четвертого тома 575

ავტორთა საძიებელი

ДЕКОНВОЛЮЦИОННЫЙ АНАЛИЗ АНГИОРЕНОГРАММ В ОЦЕНКЕ ТРАНСПОРТА ^{99m}Tc -ДТПА ПРИ НЕИЗМЕНЕННОЙ ФУНКЦИИ ПОЧЕК

Ю. Я. Глейзер, Г. Г. Бочоришвили, А. Я. Ванинский

2 Московский ордена Ленина медицинский институт им. Н. И. Пирогова

Поступила в редакцию 4.2.1978

Проведено радионуклидное исследование с ^{99m}Tc -ДТПА-пентатехом у 27 человек с нормальной функцией почек. Запись каждого исследования по двум группам позволила воспроизвести на дисплее компьютера как почечную перфузию, так и гломерулярную фильтрацию. В последующем, путем вырезания «световым карандашом» «областей интереса», включающих обе почки и брюшную аорту, получали ангиоренограммы, которые обрабатывались на ЭВМ по различным математическим программам, в частности по программе деконволюционного анализа.

В результате обработки кривых удалось определить и выделить несколько основных параметров, характеризующих потенциал каждой почки в отдельности.

Исследование с одномоментным введением ^{99m}Tc -ДТПА-пентатехом позволило получить обширную информацию о функциональном состоянии почек. Возможность обработки получаемой информации по различным математическим программам и, в частности, по программе деконволюционного анализа знаменует собой новую веху в изучении гломерулярной части нефрона и позволяет на качественно новом уровне подойти к рассмотрению патогенеза различных заболеваний почек, выработать оптимальную тактику лечения с учетом прогнозирования и реабилитации почечной функции после него.

Среди многочисленных нефротропных меченных соединений, применяемых в клинической практике для оценки различных функциональных параметров почки, наибольшее распространение, как известно, получили ^{131}I -гиппуран и хелатные соединения, к числу которых относятся ЭДТА и ДТПА, меченные ^{51}Cr , ^{169}Yb , ^{113m}In , ^{99m}Tc . При изучении функции проксимальных канальцев в настоящее время наиболее приемлем ^{131}I -гиппуран. Многочисленные исследования кинетики этого меченного соединения показали, что приблизительно 80% препарата секретируется и 20% фильтруется [6]. Именно это положение является наиболее слабым звеном в создании многочисленных однокамерных, двухкамерных и многокамерных моделей почки, характеризующих кинетику препарата и, на ее основе, интерпретации получаемых результатов.

В клинике нередко приходится сталкиваться с ситуацией, когда имеет место несимметричность поражения канальцевого и клубочкового аппаратов, что в свою очередь приводит к ложноположительной и ложноотрицательной трактовке результатов исследования.

Качественно новый этап в изучении функционального состояния почек обусловлен синтезом достаточно стабильного соединения ^{99m}Tc -ДТПА и его отечественного аналога пентадата. Указанный препарат удовлетворяет следующим требованиям: а) полностью фильтруется клубочками; б) не связывается с белками плазмы крови; в) не реабсорбируется и синтезируется в канальцах; г) остается физиологически инертным. Перечисленная совокупность признаков ДТПА и физико-химических свойств ^{99m}Tc делают его наиболее адекватным для изучения функционального состояния почек [4, 6], в том числе и для изучения состояния трансплантированной почки [2, 3].

В доступной нам литературе мы не смогли найти убедительных данных о комплексной оценке функционального потенциала почек при неизменной их функции с математической обработкой результатов исследования. Полученные данные по изучению артериальной и венозной гемодинамики, фильтрационной функции и пассажа препарата по верхним мочевым путям, позволяют оценить возможность метода при односторонних, двусторонних и заболеваниях единственной почки, а также после трансплантации трупной почки.

Для достижения указанной цели были поставлены следующие задачи:

1. Оценить объем получаемой информации при динамической сцинтиграфии с ^{99m}Tc -ДТПА.
2. Разработать математический метод оценки компьютерных ангиограмм с ^{99m}Tc -ДТПА при неизменной функции почек.

МАТЕРИАЛ И МЕТОДИКА

^{99m}Tc -ДТПА готовили непосредственно перед употреблением на основе ^{99m}Tc , получаемого из генератора, смеси двухлористого олова (SnCl_2) и кальций-тринатриевой соли диэтилентриаминпентауксусной кислоты (CaNa_3 ДТПА).

Для получения препарата во флакон с указанной смесью добавляли 5 мл раствора ^{99m}Tc -пертехнетата натрия, вымываемого из генератора. Через 30 мин после перемешивания (или полного растворения порошка в случае использования смеси веществ в сухом виде) препарат готов к употреблению.

На кафедре урологии и оперативной нефрологии 2 Московского медицинского института обследовано 27 человек, у которых комплекс клиничко-лабораторных, иммунологических и рентгенологических исследований показал нормальную функцию почек. За 40—45 мин до начала радионуклидного исследования пациенты выпивали 500—600 мл воды.

Исследования проводили на γ -камере (Picker) и компьютере РДР 11/05 (ДЕС). Программы математической обработки полученной информации написаны на языке Focal операционной системы Gamma-11.

Положение больного на животе, спиной к детектору γ -камеры, так чтобы в поле зрения детектора попадали обе почки и брюшная аорта. После этого в вену локтевого сгиба быстро вводили 5 мКи ^{99m}Tc -ДТПА в объеме 0,5—0,7 мл и кинетику транспорта изотопа записывали на магнитный диск компьютера по двум группам: I группа — 1 кадр в 1 с (40 с — 40 кадров) и II группа — 1 кадр в 20 с (16 мин — 48 кадров). Общая продолжительность исследования 16 мин 40 с (88 кадров).

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

В процессе обработки результатов исследования путем воспроизведения на дисплее компьютера динамики транспорта препарата оценивались следующие его этапы: 1) артериальная и венозная гемо-

динамика: 2) начало гломерулярной фильтрации и транспорта препарата из «коркового» в «мозговой» слой; 3) транспорт препарата из «паренхимы» в «чашечно-лоханочную» систему.

Подобный анализ динамической сцинтиграфии ^{99m}Tc -ДТПА позволил качественно оценить: 1) почечный кровоток; 2) структуру паренхимы и коллекторной системы почек; 3) регионарную гломерулярную фильтрацию.

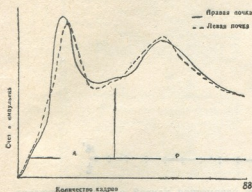


Рис. 1. Ангиоренограммы при неизменной функции почек:
А — ангиографическая фаза;
Р — ренограмма

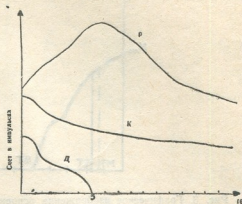


Рис. 2. Деконволюционный анализ кривых: К — кривая клиренса крови; Р — ренограмма; Д — кривая импульсной переходной функции

На следующем этапе обработки «световым карандашом» вырезали «области интереса», включающие обе почки и брюшную аорту. В последующем на экране дисплея получали ангиоренограммы (рис. 1). Дальнейшую обработку кривых осуществляли в последовательности, представленной на рис. 4.

Как видно из приведенной схемы, основными программами обработки являлись программа аппроксимации кривых и усовершенствованная программа деконволюционного анализа [1, 5].

Принцип деконволюционного анализа заключается в том, что почка рассматривается как линейная динамическая система, где уровень почечной ренограммы в каждый момент времени считается прямо пропорциональным количеству препарата в органе и крови. В данной работе исследуется процесс перехода радиоактивного вещества из крови в почку, который формализуется как передача сигнала стационарной линейной динамической системы с дискретным временем. Известно, что выходной и входной сигналы такой системы связаны посредством импульсной переходной функции следующим образом:

$$R(t) = \sum_{i=0}^t B(t-i) N(i), \quad (1)$$

где $B(t)$ — активность препарата в крови в момент времени t (входной сигнал);

$R(t)$ — активность препарата в почке в момент времени t (выходной сигнал);

$N(t)$ — импульсная переходная функция.

Физиологический смысл импульсной переходной функции, ренограмма, которая была бы получена при введении болюса ДТПА непосредственно в почечную артерию. Из уравнения (1) следу-

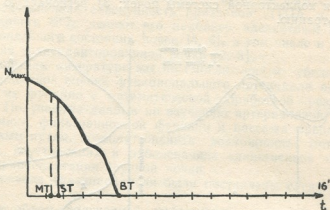


Рис. 3. Графическое изображение основных параметров кривой импульсной переходной функции после обработки кривых клиренса крови и ангиоренограмм программой деконволюционного анализа

ет, что импульсная переходная функция, которая описывает все динамические свойства изучаемой системы, может быть представлена в виде:

$$N(t) = \frac{1}{B(0)} \left(R(t) - \sum_{i=0}^{t-1} B(t-i) N(i) \right) \quad (2)$$

Уравнение (1) называется «сверткой» (*convolution*) функций $B(t)$ и $N(t)$. В силу этого, следуя выражению (1), уравнение (2) можно назвать «разверткой» (*deconvolution*) этих функций, чем и объясняется название метода.

Уравнение (2) дает возможность реализовать на ЭВМ алгоритм рекуррентного вычисления значений $N(t)$ и интерпретации результатов с точки зрения физиологии почки.

В плане усовершенствования методики расчета, изложенной в работах [1, 5], нами предложено, по желанию исследователей, автоматически или вручную выделять участок разведения на кривой крови, отражающий клиренс крови, и корректировать его, предполагая наличие двух экспонент. Помимо этого, величина среднего времени транспорта препарата вычислялась двумя способами: как центр тяжести фигуры, ограниченной графиком функции $N(t)$ и осью времени по формуле:

$$MT = \frac{\sum_{t=0}^T tN(t)}{\sum_{t=0}^T N(t)}, \quad (3)$$

и как отношение площади указанной фигуры к максимальному значению функции $N(t)$:

$$ST = \frac{\sum_{t=0}^T N(t)}{N_{\max}}, \quad (4)$$

где T — время исследования.

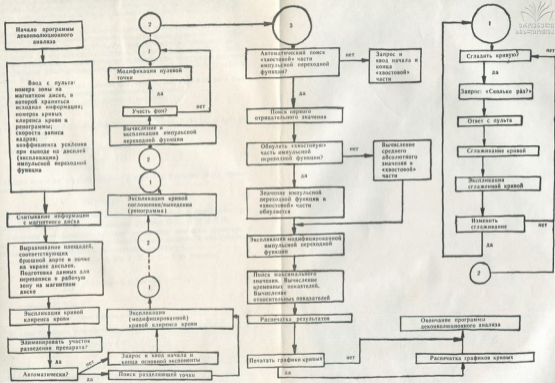


Рис. 5. Блок-схема программы деволюционного анализа

Величину MT можно, по нашему мнению, трактовать как среднее время достижения препаратом почки, а ST как среднее время пребывания в ней. Расчет импульсной переходной функции производился по уравнению (2) с предварительным автоматическим выравниванием площади почки и брюшной аорты, выделенных как «области интереса» (ROI) на экране дисплея.

Функция $N(t)$ после достижения первого отрицательного значения (эта часть графика в дальнейшем обозначена нами «хвостовой») полагалась равной нулю. В то же самое время предусматривалось вручную отметить точку, начиная с которой значение функции $N(t)$ следовало полагать равным нулю, а также возможность учесть при исследовании среднюю абсолютную величину ряда последних точек графика функции $N(t)$.

Для коррекции участка кривой клиренса крови, отражающего разведение препарата, применен приближенный метод: находилась точка t_0 , для которой величина:

$$I(t_0) = \min_{a_1, b_1} \sum_{t=0}^{t_0+1} (\ln B(t) - \ln_{a_1} - b_1 t)^2 + \min_{a_2, b_2} \sum_{t=t_0-1}^T (\ln B(t) - \ln_{a_2} - b_2 t)^2 \quad (5)$$

достигала минимального значения:

$$I(t_0) = \min_{t=1, T-1} I(t). \quad (6)$$

После этого на отрезке $(0, t_0-1)$ значение функции $B(t)$ принималось равным:

$$\tilde{B}(t) = a_2 t^{b_2} 2^t. \quad (7)$$

Чтобы свести к минимуму влияние флюктуаций, в программе предусмотрена возможность сглаживания функций $B(t)$, $R(t)$ и $N(t)$.

Алгоритм сглаживания основан на замене значения функции в точке t значением прямой, проведенной через данную, предыдущую и последующую точки методом наименьших квадратов:

— находятся значения a_i и b_i для $t = 2, \dots, T-1$ из условия:

$$\sum_{i=t-1}^{t+1} (F(i) - a_i - b_i \cdot i)^2 = \min_{a_i, b_i}; \quad (8)$$

— заменяем $F(t)$ на

$$F(t) = \tilde{F}(t) = a + bt. \quad (9)$$

Можно показать, что расчетное значение $\tilde{F}(t)$ в этом случае равно:

$$\tilde{F}(t) = \frac{F(t-1) + F(t) + F(t+1)}{3}, \quad (10)$$

где F — одна из функций B , R или N соответственно (Блок-схема программы деконволюционного анализа представлена на рис. 5).

В результате обработки кривых удалось определить и выделить несколько основных параметров, характеризующих функциональный потенциал каждой почки в отдельности:

$N_{\text{макс}}$ — максимальное значение функции $N(t)$ (показатель количества функционирующих клубочков);

- MT — центр тяжести фигуры, ограниченной графиком функции $N(t)$ (среднее время достижения препаратом почки);
- ST — отношение площади фигуры, ограниченной графиком функции $N(t)$, к ее максимальному значению (среднее время пребывания препарата в почке);
- BT — начало нулевой части функции $N(t)$ (физиологическая активность клубочкового аппарата почки — рис. 2 и 3).

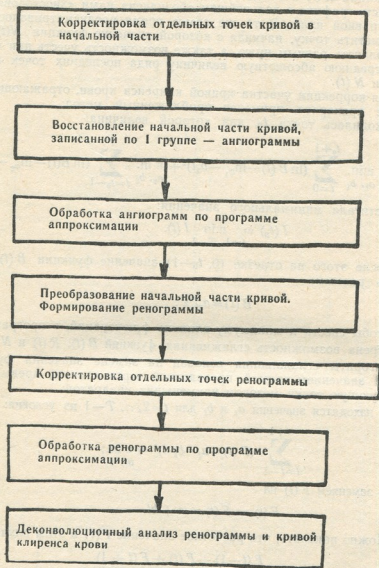


Рис. 4. Последовательность обработки ангиоренограмм, полученных при исследовании с ^{99m}Tc -ДТПА-пентагехом

На основании анализа полученных данных удалось установить, что в нормально функционирующей почке начало нулевой части функции отмечается на 5.0 ± 0.33 мин.

В трактовке прогнозирования тактики лечения представляется важным определение максимума деконволюционной кривой, который

в норме равен: $0,6455 \pm 0,06$, а также среднего времени поступления препарата в почку и среднего времени его нахождения в органе, которые в норме соответствуют: $1,3581 \pm 0,25$ и $1,41 \pm 0,13$.

Результаты исследования дают основание считать, что одномоментное введение ^{99m}Tc -ДТПА-пентатеха позволяет получить всеобъемлющую информацию о функциональном потенциле почки с учетом почечной перфузии, макроструктуры и гломерулярной фильтрации. Возможность обработки информации по различным математическим программам и, в частности, по программе деконволюционного анализа, является новым этапом в изучении состояния гломерулярного аппарата почки. Это позволяет на качественно новом уровне подойти к рассмотрению патогенеза и выбору оптимальной тактики лечения с учетом прогнозирования и реабилитации почечной функции.

ЛИТЕРАТУРА

1. Diffey B. L., Hall F. M., Corfield J. R. J. Nucl. Med., 13, 352—355, 1976.
2. Dubovsky E. V., Logic J. R., Diethelm A. G., Balch C. M., Tauxe W. N. J. Nucl. Med., 16, 1115—1120, 1975.
3. Freedman G. S., Schiff M., Lange JR., R. C., Brown R. S., Weiss R. M., Treves S., Lytton B. Investigative Urology, 9, 490—495, 1972.
4. Houser W., Atkins H. L., Nelson K. G. Radiology, 94, 679—684, 1970.
5. Kenny R. W., Ackery D. M., Fleming J. S. Br. J. Radiol., 48, 481—486, 1975.
6. Klopffer J. F., Hauser W., Atkins H. L., Eckelman N. C., Richards P. J. Nucl. Med., 13, 107—110, 1972.

ანგიოგრაფიის დიკონვოლუციური ანალიზი ^{99m}Tc -დტპა-ს ტრანსპორტის შეფასებაში თირკმლის შეშუკვლილი ფუნქციის დროს

ი. გლიჯანი, ბ. ბოგოროვილი, ა. შანიანი

Е. პიროგოვის სახელობის მოსკოვის II სამედიცინო ინსტიტუტი

რ ე ზ ი მ ე

27 ავადმყოფს თირკმლის შეშუკვლილი ფუნქციით ჩაუტარდა რადიოიზოტოპური გამოკვლევა ^{99m}Tc -დტპა-პენტატეხით. გამოკვლევა წარმოებდა *Picker Dynacamera*-გამა კამერაზე PDP 11/05 კომპიუტერით.

თითოეული გამოკვლევის ორ ჯგუფად ჩაწერა შესაძლებლობას იძლეოდა შემდგომში აღვედგინა ე. გ. მ. ეკრანზე, როგორც თირკმლებში სისხლის მიმოქცევა, ასევე გორგლოვანი ფილტრაცია. გამოკვლევის ხანგრძლივობა 16 წუთი და 40 წამია. გამოკვლევის დასასრულისათვის თითოეული თირკმლიდან და მუცლის აორტიდან ვაგებდით აქტივობის მრუდებს. შემდგომში *Focal*-ზე დაწერილი პროგრამებით ვაწარმოებდით მიღებული ინფორმაციის დამუშავებას.

ჩვენი გამოკვლევების შედეგად შესაძლებელი გახდა თირკმლის ფუნქციის ძირითადი მაჩვენებლების დადგენა და რიცხობრივი მნიშვნელობების განსაზღვრა.

^{99m}Tc -დტპა მეტად ღირებული ნიშანდებელი კომპლექსია თირკმლების სისხლის მიმოქცევის, სტრუქტურის და გორგლოვანი ფილტრაციის შესასწავლად. მიღებული ინფორმაციის მათემატიკური პროგრამებით და კერძოდ დეკონვოლუციური ანალიზის პროგრამით დამუშავება, წინ გადადგმული ნაბიჯია

ნეფრონის გორგლოვანი ნაწილის შესწავლაში. ეს უკანასკნელი შესაძლებლობას გვაძლევს ხარისხობრივად მაღალ საფეხურზე განვიხილოთ თირკმლის სხვადასხვა დაავადებათა პათოგენეზი, ავირჩიოთ სათანადო მკურნალობის ტაქტიკა, პროგნოზირების და თირკმლის დარღვეული ფუნქციის რეაბილიტაციის პოზიციებიდან გამომდინარე.

DECONVOLUTION ANALYSIS OF ANGIORENOGRAMS IN THE ASSESSMENT OF ^{99m}Tc -DTPA TRANSPORT IN THE KIDNEY WITH NORMAL FUNCTION

I. J. GLEIZER, G. G. BOCHORISHVILI, A. J. VANINSKI

The 2nd Moscow Medical Institute USSR

Summary

The radionuclide study with ^{99m}Tc -DTPA-pentatex was performed in 27 patients with normal renal function. The Picker Dynacamera was used in conjunction with the computer PDP 11/05.

Collection of data in two groups permits subsequent simultaneous evaluation of perfusion and glomerular filtration.

Each study proceeds for 16 *min.* and 40 *sec.* and at the end of the study, time-activity curves of each kidney and the abdominal aorta are obtained for analysis. Following the programs, written in Focal, permits to calculate and display the relevant information on renal function.

The main parameters of each kidney function were determined.

^{99m}Tc -DTPA-pentatex appears to be a useful radiopharmaceutical to receive the complete information about the renal perfusion, gross renal morphology and glomerular filtration. The possibility of mathematical analysis, in particular with the program of deconvolution analysis, is a further step in the understanding of the glomerular part of the nephron, which enables the understanding of pathogenesis of the different kidney troubles, helps to choose the treatment procedures, according to the prognosis and the recovery of the impaired renal function.

УДК 576.3+576.312.31

ЦИТОЛОГИЯ

ИССЛЕДОВАНИЕ СООТНОШЕНИЯ РАЗЛИЧНЫХ ФОРМ ХРОМАТИНА ПОСРЕДСТВОМ ПОСТРОЕНИЯ КРИВЫХ ГИДРОЛИЗА

Н. М. Гиоргобани, П. В. Челидзе

Институт экспериментальной морфологии им. А. Н. Нативили АН ГССР, Тбилиси

Поступила в редакцию 13.5.1977

На модельных кривых кислотного гидролиза показано, что ядра клеток печеночной ткани крысы, а также лимфоциты крови человека содержат хроматин в двух различных состояниях, что проявляется в виде двух максимумов окраски. Регистрируемые состояния хроматина меняются как в условиях функциональной нагрузки клеток, так и при физиологическом и экспериментальном разрыхлении хроматина. При резком сдвиге количественных соотношений хроматина, находящегося в двух разных состояниях, общее количество ДНК в клетках почки остается неизменным.

Два состояния хроматина, фиксируемые на графиках, не соответствуют структурам известным как эу- и гетерохроматин.

Количество ДНК ритмически изменяется: в клетках почки крысы с утра до вечера падает приблизительно на 23%.

Структуры, обозначаемые как эу- и гетерохроматин или как диффузный и конденсированный, представляют в настоящее время объект многочисленных и зачастую противоречивых исследований. Имеются достаточно веские основания предполагать, что эти две формы хроматина отражают функциональное состояние интерфазных хромосом [5, 8, 9, 10, 11, 12, 22].

Одним из многочисленных методов исследования физико-химического состояния хроматина в ядрах клеток является цитохимический метод окраски хроматина по Фельгену. Оказалось, что для различных тканей, при одинаковых условиях окраски, интенсивность последней неодинакова [2, 3, 4, 5, 7, 12].

Из литературы также известно, что соотношение разных состояний хроматина в ядрах клеток меняется в зависимости от уровня дифференцировки [10] и при функциональных сдвигах [7].

Поскольку в литературе нет однозначных выводов о том, насколько кривые гидролиза при окраске по Фельгену отражают изменения свойств хроматина мы предприняли попытку с помощью продленного во времени гидролиза исследовать как изменяются кривые гидролиза при функциональных сдвигах, происходящих в клетках, и при изменении физико-химического состояния хроматина.

МАТЕРИАЛ И МЕТОДИКА

В одной серии опытов использовали крыс-самцов весом 115—120 г. Производили одностороннюю нефрэктомия, удаленную почку использовали для контроля. Животных забивали на 16 и 40 ч после операции. Ядра клеток почки выделяли по методу Шово. Среднее ко-

личество ДНК определяли по методу Цанева и Маркова [8]. Измерения проводились на «Спектотоп» 204.

В следующей серии экспериментов исследовали лимфоциты периферической крови человека. В одном варианте этой серии лимфоциты культивировались в присутствии ФГА по методу Мурхерда [21]; материал брали на 24 ч инкубации. В другом — лимфоциты выдерживали в гипотоническом растворе цитрата натрия (950 мг на 100 мл³ дистиллированной воды) 30 мин при 37°C. Контролем в первом случае служили как лимфоциты из периферической крови человека, так и лимфоциты, инкубированные без ФГА. Во втором случае в качестве контроля использовали лимфоциты из периферической крови человека.

Гидролиз препаратов проводили в однонормальном растворе соляной кислоты при 37°C, в течение 1,5 ч с 10-минутными интервалами.

Окраску препаратов производили по обычной методике Фельгена. Фотометрировали одноволновым методом двух площадей [1]. Каждая точка кривой гидролиза представляет собой среднее величин, полученное измерением 30 ядер.

Для электронной микроскопии материал фиксировали в 2,5%-ном глютаровом альдегиде, приготовленном на 10,1 М фосфатном буфере с рН 7,4. Для постфиксации осажденные лимфоциты и кусочки ткани помещали в 1%-ный раствор OsO₄, приготовленный на том же буфере. Обезвоженный материал заключали в Эпон 812. Ультратонкие срезы, изготовленные на ультратоме LKB-III, окрашивали 5%-ным водным раствором уранилацетата и цитратом свинца по Рейнольдсу и просматривали в микроскопе Tesla BS-500 в отделе цитологии Института экспериментальной морфологии АН СССР.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Ранее отмечалось, что после односторонней нефрэктомии на 26 ч в клетках почки происходят изменения соотношений физико-химических состояний хроматина, или двух видов хроматина, по-разному поддающихся кислотному гидролизу. Эти состояния мы обозначали как I и II состояния [2].

В настоящем исследовании мы изучали кривые гидролиза, снятые после односторонней нефрэктомии на 16 и 40 ч, для того, чтобы проследить за динамикой изменения указанных состояний хроматина в ранние и поздние сроки после операции. Кривые гидролиза этого опыта приведены на рис. 1. Материал для снятия кривых *a*, *b*, *в* брали утром

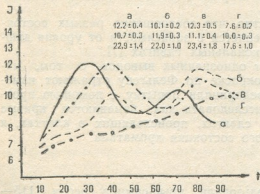


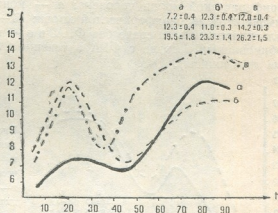
Рис. 1. Кривые кислотного гидролиза клеток почки крысы, снятые после односторонней нефрэктомии: *a* — контрольная кривая, снятая утром; *б* — кривая гидролиза, снятая на 16 ч после операции; *в* — кривая гидролиза, снятая на 40 ч после операции; *г* — контрольная кривая, снятая вечером. На всех рисунках по оси абсцисс отложено время гидролиза *t*, по оси ординат — количество ДНК в условных единицах *J*.

(11 ч), а для кривой *г* вечером (19 ч); *a* и *г* — контрольные кривые кислотного гидролиза для ядер клеток почки, извлеченной во время операции (соответственно утром и вечером), т. е. для клеток, не подвергшихся

никаким воздействиям; *б* и *в* — кривые гидролиза соответственно на 16 и 40 ч после операции. Анализ кривых *а*, *б* и *в* показывает, что:

- 1) все кривые имеют двухвершинный вид;
- 2) проявление максимумов окраски у кривой *а* наступает соответственно к 30 и 70 мин гидролиза, а у кривых *б* и *в* к 40 и 80 мин;
- 3) если за количество ДНК в ядрах принять сумму интенсивностей окраски в первом и во втором максимумах кривых гидролиза, то оказывается, что для ядер почечной ткани, как в контроле (кривая *а*), так и в опыте (*б* и *в*), количество ДНК в относительных единицах в пределах ошибок остается постоянным и равным соответственно — $22,9 \pm 1,4$, $22,0 \pm 1,0$, $23,4 \pm 1,8$;

Рис. 2. Кривые кислотного гидролиза для лимфоцитов периферической крови человека: *а* — кривая гидролиза для лимфоцитов периферической крови человека в обычных условиях; *б* — кривая гидролиза лимфоцитов, инкубированных в обычной среде в течение 24 ч; *в* — кривая гидролиза лимфоцитов, инкубированных в обычной среде с добавлением ФГА в течение 24 ч



4) уже к 16 ч после операции происходит заметная «перекачка» хроматина из состояния I в состояние II, тогда как к 40 ч фиксируемые состояния приближаются к контрольному значению, но проявляются, как было указано, в разные временные промежутки гидролиза.

Исходя из вышесказанного следует, что в ядрах клеток почки при односторонней нефрэктомии в разные сроки после операции можно наблюдать циклические переходы хроматина из одного состояния в другое и эти изменения состояния хроматина не связаны с синтезом ДНК, на что указывает сохранение строго постоянного количества ДНК как до, так и после операции.

Кривая *г* (рис. 1) заметно отличается от рассмотренных ранее кривых. Как следует из хода кривой *г*, максимум, соответствующий хроматину, находящемуся в состоянии I, выражен очень слабо. Участок проявления первого максимума также выражен нечетко, в виде едва заметного увеличения значения кривой до $7,6 \pm 0,2$ к 30 мин. Своего максимального значения кривая достигает к 90 мин — $10,3 \pm 0,3$. Создается впечатление, что весь хроматин перешел во II состояние. Если к этой кривой мы применим метод суммирования значений максимумов окраски, то общее количество ДНК окажется равным $17,6 \pm 1,0$, тогда как в утреннее время оно равно $22,9 \pm 1,4$ (кривая *а*). Из полученных данных следует, что в вечернее время суток количество ДНК падает на 23%. Это значение оказалось в достаточной мере достоверным ($p < 0,01$).

Результаты биохимического определения количества ДНК в выделенных ядрах клеток почки крысы в указанное время суток (11 и 19 ч) также указывают на явные изменения количества ДНК с утра до вечера. К вечеру количество ДНК падает на 24%, $p < 0,01$. Как видно из описанного материала, результаты биохимического определения сред-

него количества ДНК на ядро хорошо согласуются с таковыми при нл-тофотометрическом исследовании данных объектов.

Полученные нами данные дают возможность допустить, что то количество ДНК, которое мы принимаем за диплоидный набор хромосом, на самом деле превышает его. Этот результат в известной мере подтверждает высказанное ранее предположение о том, что, по-видимому, в составе хроматина содержится некий «избыток» ДНК, который способен разрушаться и вновь синтезироваться, и это не влияет на жизнеспособность клеток [6]. Такая избыточная ДНК, возможно, представляет собой метаболическую ДНК [3, 9, 12], однако это предположение требует более глубокого освещения данного вопроса.

На рис. 2 приведены кривые кислотного гидролиза для лимфоцитов периферической крови человека: *a* — контрольная кривая гидролиза лимфоцитов из периферической крови; *b* — кривая для лимфоцитов, культивированных в среде без ФГА, и *в* — кривая для лимфоцитов, инкубированных в среде с ФГА в течение 24 ч (бласттрансформированные лимфоциты).

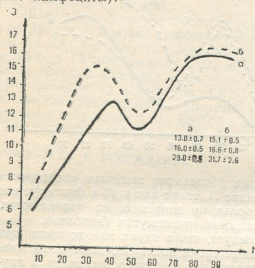


Рис. 3. Кривые кислотного гидролиза для лимфоцитов периферической крови человека, обработанных гипотоническим раствором:
a — контрольная кривая для лимфоцитов периферической крови человека в обычных условиях;
б — кривая гидролиза для тех же лимфоцитов, обработанных гипотоническим раствором

Как видно из данного рисунка, кривые *a*, *б* и *в* проявляют два максимума окраски к 20 и к 80 мин гидролиза (рис. 2). Анализ кривых показал, что общая интенсивность окраски бласттрансформированных лимфоцитов ($26,2 \pm 1,5$) возрастает по сравнению с контрольной кривой *a* ($19,5 \pm 1,8$) на 26%, а от контрольной кривой *в* практически не отличается ($23,3 \pm 1,4$). Повышение окраски при воздействии на лимфоциты ФГА в данном случае, т. е. на 24 ч инкубации, не связано с возрастанием количества ДНК в клетках, так как известно, что к этому времени клетки еще не успевают синтезировать ДНК (кроме 0,2%), хоть и изменяют свою морфологическую картину [7]. Здесь же следует отметить, что относительное количество состояния I хроматина возросло более заметно, чем состояния II (кривые *a* и *в*), но общая интенсивность окраски в кривой *в* увеличивается за счет повышения обеих максимальных значений. В кривой *б* первый максимум, соответствующий состоянию I хроматина, совпадает с таковым у кривой *в*, тогда как состояние II заметно понижается. Судя по графикам, в лимфоцитах, инкубированных без ФГА, наблюдается перераспределение хроматина в сторону состояния I.

На электроннограмме А рис. 4 показан лимфоцит периферической крови человека. Здесь ясно видно, что фаза гетерохроматина явно пре-

обладает над его диффузной частью. Сгустки конденсированного хроматина, проявляющие в отдельных участках гранулярную текстуру, анастомизируя между собой, вдаются вглубь нуклеоплазмы. На электронограмме *В* приведен лимфоцит, обработанный ФГА. Видно резкое снижение степени конденсации. Почти все ядро заполнено дисперсным, равномерно рассеянным материалом. Сохраняются небольшие участки конденсированного хроматина, локализованные преимущ-

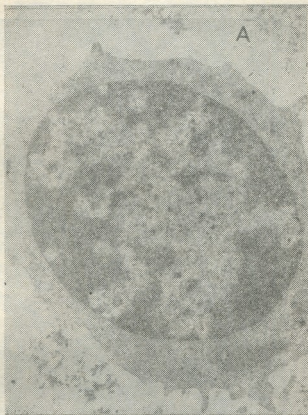
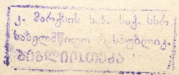


Рис. 4. А. Ядро периферической крови человека. Конденсированный хроматин хорошо развит. $\times 14.000$

венно по периферии. При этом наблюдается довольно рыхлая упаковка даже внутри зон конденсации. На электронограмме *Б* лимфоцит, инкубированный в среде без ФГА, аналогичен лимфоциту из периферической крови человека: преобладает часть конденсированного хроматина, тогда как в графиках кривые *a* и *b* (рис. 2) явно отличаются друг от друга по состояниям хроматина.

Сравнивая цитофотометрические и электронно-микроскопические данные в случае лимфоцитов периферической крови человека, можно заметить определенную корреляцию; при низких значениях состояния хроматина и относительно высоком значении состояния II (рис. 2, *a*) на электронограмме *А* (рис. 4) видно также низкое содержание диффузного и большая доля конденсированного хроматина. Противоположную картину получили при обработке лимфоцитов ФГА. Так как, судя по электронограмме *В*, мы получили явное повышение доли диффузного хроматина за счет раскручивания конденсированного, мы ожида-



ли, что и состояние I хроматина (рис. 2, в) возрастает вследствие понижения состояния II. Но, как следует из указанного рисунка, корреляции кривых кислотного гидролиза с электронно-микроскопическими данными наблюдать не удалось. Важно отметить, что электронно-микроскопическая картина лимфоцитов, инкубированных в среде без ФГА, и лимфоцитов из периферической крови человека (рис. 4, А. Б) не отличается друг от друга, тогда как кривые *a* и *б* на графиках рис. 2 проявляют существенные различия.



Рис. 4 Б. Ядро периферической крови человека, инкубированное в обычной среде. Структуризация хроматина сходна с таковой на рис. 4 А. $\times 14000$

Приведенные данные позволяют с уверенностью говорить о том, что фиксируемые с помощью кривых гидролиза состояния хроматина не соответствуют эу- и гетерохроматину.

На рис. 3 приведены кривые гидролиза: *a* — для лимфоцитов периферической крови человека; *б* — для тех же лимфоцитов, обработанных гипотоническим раствором.

При экспериментальном разрыхлении хроматина гипотоническим раствором обнаруживается, что первый максимум окраски со значением $15,5 \pm 0,5$ проявляется к 30 мин, а второй — со значением $16,6 \pm 0,8$ к 90 мин. Суммарное значение этих двух максимумов равно $31,7 \pm 2,6$ (кривая *б*); для кривой *a*: к 40 мин — $13,0 \pm 0,7$, к 90 мин — $16,0 \pm 0,5$. Общее количество ДНК в относительных единицах равно $29,0 \pm 2,5$.

Известно, что при экспериментальной деконденсации хроматина практически весь ДНП материал переходит в диффузное состояние.

Это хорошо видно из электронограммы Г на рис. 4 при обработке лимфоцитов гипотоническим раствором. На данном рисунке не удается обнаружить никаких признаков конденсации хроматина. Ядро — набухшее, просветленное; весь объем ядра равномерно заполнен отдельными, четко структурированными фибриллами. Упаковка фибрилл рыхлая; отдельные нити лежат на большом расстоянии друг от друга. Соз-



Рис. 4В. Ядро лимфоцита через 24 ч после воздействия ФГА. Хроматин заметно разрыхлен. $\times 10000$

дается впечатление расплетения плотных хроматиновых масс как на периферии ядра, так и в его остальных участках. Исходя из описанного материала, при снятии кривой гидролиза лимфоцитов, обработанных раствором низкой ионной силы, мы предполагали получить одновершинную кривую с максимумом окраски в начальной фазе гидролиза. Как видно из рис. 3, мы получили повышение как первого, так и второго максимумов окраски (кривая б) по сравнению с контрольной кривой (а). Следует заметить, что увеличение относительного количества состояния I проявляется более заметно, чем таковое состояния II. В итоге общая интенсивность окраски в кривой б повышается на 9%. Эта цифра хорошо согласуется с данными Гарсия [14], который отмечал усиление окраски на 7—12% относительно контроля в лимфоцитах, выдержанных в гипотоническом растворе. В нашем случае повышение интенсивности окраски на отмеченные 9% представляется недостоверным и требует дальнейшего подтверждения.

На основании проведенных опытов мы можем заключить, что фиксированные на графиках (кривые гидролиза) I и II состояния не соответствуют эу- и гетерохроматину, вместе с тем при функциональных на-



Рис. 4Г. Ядро лимфоцита, обработанного гипотоническим раствором. Весь хроматин в разрыхленном состоянии. $\times 10000$

грузках (почка при нефрэктомии) клетки реагируют изменением соотношения регистрируемых состояний хроматина. Наблюдались также ритмические изменения количества ДНК: с утра до вечера ДНК уменьшается на 23—24%.

ЛИТЕРАТУРА

1. Гарсия А., Иорно Р. В сб.: Введение в количественную цитохимию, «Мир», М., 1969, 196—201.
2. Гиоргобиани Н. М. Сообщения АН ГССР, 77, 3, 737—739, 1975.
3. Зандриттер В. В сб.: Введение в количественную цитохимию, «Мир», М., 1969, 139—153.
4. Козлова Н. В., Маркозацвили М. И., Туманишвили Г. Д. Сообщение АН ГССР, 74, 717—720, 1974.
5. Маршак Т. Л., Бродский В. Я., Урываева И. В. Онтогенез, 1, 4, 421—427, 1970.
6. Туманишвили Г. Д. Цитология, 18, 4, 419—429, 1976.
7. Чертков И. Л., Фриденштейн А. Я. Цитология, 10, 3, 281—296, 1968.



8. Цанев Р. Г., Марков Г. Г. Биохимия, 25, 1, 151—159, 1960.
9. Arpelton T. C., Pelc S. R., Farbit M. U. J. Cell Sci., 5, 1, 1969.
10. Fawcett D. W. An atlas of electron microscopy, Acad. Press, New York, 1966.
11. Fig A., Pavan C., Brachet I. J. Exper. Cell Res. Suppl., 6, 105—114, 1958.
12. Fontaine G. C., Swartz F. I. J. Cell Phys., 80, 2, 281—290, 1972.
13. Frenster J. N., Allfrey V. G., Mirsky A. E. Proc. Nat. Acad. Sci. USA, 50, 1026—1030, 1963.
14. Garcia A. M. J. Histochem. Cytochem., 17, 47—55, 1969.
15. Garcia A. M. Introduction to Quantitative Cytochemistry, 11, 153—168, 1970.
16. Hey E. D., Revel J. P. J. Cell Biol., 27, 332—334, 1963.
17. Littau V. C., Allfrey V. G., Mirsky A. E. Proc. Nat. Acad. Sci. USA, 54, 1204—1208, 1965.
18. Milner G. R., Hayhoe F. G. Nature, 218, 5, 785—786, 1968.
19. Milner G. R. J. Cell Sci., 4, 3, 569—583, 1969.
20. Mirsky A. E., Burdick C., Davidson E. H., Littau V. C. Proc. Nat. Acad. Sci. USA, 61, 592—596, 1968.
21. Moorhead P. S., Nowell P. C., Battips D. M., Hungerford D. A. Exper. Cell Res., 20: 615—616, 1960.
22. Tokuyasu K., Madden S. C., Zildis L. J. J. Cell Biol., 39, 3, 630—660, 1968.

ქრომატინის სხვადასხვა ფორმების უფარდების შესწავლა
ჰიდროლიზის მრუდების მეშვეობით

ნ. გიორგობიანი, პ. ზალიძე

საქართველოს სსრ მეცნიერებათა აკადემიის ა. ნათიშვილის სახელობის
ექსპერიმენტული მორფოლოგიის ინსტიტუტი, თბილისი

რ ე ზ ი უ მ ე

ნაჩვენებია, რომ ვირთაგვას თირკმლის ქსოვილის უჯრედთა ბირთვები და აგრეთვე ადამიანის პერიფერიული სისხლის ლიმფოციტები შეიცავენ ქრომატინს, რომელიც ორ სხვადასხვა მდგომარეობაში იმყოფება. ქრომატინის ორი მდგომარეობა ვლინდება ჰიდროლიზის მოდელურ მრუდებზე, ორი მაქსიმუმის სახით. ქრომატინის ეს ორი მდგომარეობა იცვლება როგორც უჯრედებში ფუნქციური ძვრების დროს, ისე მაშინ, როცა ქრომატინი გაფაშარებას განიცდის ბუნებრივ ფიზიოლოგიურ ან ექსპერიმენტის პირობებში.

მიღებული მონაცემებით აშკარად ჩანს, რომ ქრომატინის ეს ორი მდგომარეობა არ არის საყოველთაოდ ცნობილი ეუქრომატინი ან პეტეროქრომატინი. ნაჩვენებია ისიც, რომ თირკმლის ქსოვილში ღწმ-ს რაოდენობა დღე-ღამის განმავლობაში რიტმულად ცვალებადობს: ვირთაგვას თირკმლის უჯრედში იგი დილით აღწევს მაქსიმუმს, ხოლო საღამოთი 23%-ით იკლებს.

INTERRELATIONS OF DIFFERENT FORMS OF CHROMATIN AS
STUDIED BY CONSTRUCTION OF HYDROLYSIS CURVES



N. M. GIORGOBIANI, P. V. CHELIDZE

A. N. Natishvili Institute of Experimental Morphology, Georgian Academy of Sciences,
Tbilisi, USSR

S u m m a r y

On the basis of analysis of prolonged acid hydrolysis curves, the nuclei of the rat liver tissue and human blood lymphocytes were shown to contain two different forms of chromatin. This may be suggested since two maximums of staining occur on the hydrolysis curve. They are changed by functional loading and by physiological and experimental loosening of chromatin. When there is a drastic change in the quantitative correlation of chromatin being in two different states, the total amount of DNA in the kidney cells remain invariable. Two different states of chromatin plotted graphically do not correspond to the structures which are known as eu- and heterochromatin. The amount of DNA changes rhythmically, namely in the rat kidney this value falls from morning to evening approximately by 23 %.

УДК 576.342:612.014.482.4

ЦИТОЛОГИЯ

НУКЛЕАЗНАЯ АКТИВНОСТЬ КЛЕТОК, ВЗАИМОДЕЙСТВУЮЩИХ С ЭКЗОГЕННОЙ ДНК

А. Н. Шутко, Н. Н. Шатнина, Л. П. Екимова

Центральный научно-исследовательский рентгено-радиологический институт
МЗ СССР, Ленинград

Поступила в редакцию 15.9.1976

Произведен сравнительный анализ спектров молекулярных весов нативных и денатурированных ДНК-Н³, инкубированных в среде, содержащей продукты жизнедеятельности клеток или сами клетки, методом ионообменной хроматографии. Показано, что одонитевая ДНК или ее участки в составе двунитовой индуцируют экзонуклеазную активность, усиливающуюся при предвзятном облучении клеток.

Для объяснения эффектов экзогенной ДНК на различные функции нормальных и облученных биологических объектов [1] особый интерес представляет изучение деградации полимера, происходящей в результате контакта его непосредственно с реципиентными клетками. Однако попытки решения вопроса о возможности такой деградации на основании учета изменений кислоторастворимых и кислотонерастворимых фракций во внутриклеточной среде при инкубации клеток с ДНК *in vitro* [10] представляются недостаточно надежными, так как необходимость повторных отмываний взвеси клеток от инкубационной среды до анализа ведет к обратным обменным процессам между клеткой и средой, а отсутствие надежных сведений о скорости этих процессов в отношении кислоторастворимых фракций [5] затрудняет интерпретацию результатов.

Распространенное изучение спектра молекулярных весов субстрата во внеклеточной среде до и после инкубации его клеточной суспензии [12] дает информацию лишь о суммарной ферментативной активности связанных с клетками и свободных ферментов, так как в инкубационных средах содержатся продукты жизнедеятельности клеток и, в частности, ДНКазы. Однако сопоставление результатов таких опытов с параллельно проводимым учетом деградирующего влияния среды, содержащей только продукты жизнедеятельности клеток, позволяют удовлетворительно оценивать вклад клеточного компонента в общую нуклеазную активность суспензии [2]. Этот принцип использован в данном исследовании для анализа нуклеазной активности нормальных и предварительно облученных *in vivo* лимфоцитов по отношению к проникающей в них экзогенной ДНК.

МЕТОДИКА ОПЫТОВ

Коммерческую высокополимерную ДНК (Мол. вес $\approx 1 \times 10^7$ дальтон) из эритроцитов цыплят («Реанал») метили *in vitro* по методу [7]. Денатурированную ДНК-Н³ получали согласно [10] из заранее меченых препаратов путем прогревания раствора ДНК в 0,015 М NaCl и

0,0015 М цитрате натрия при 95°C в течение 10 мин с последующим быстрым охлаждением на ледяной бане и доведением концентрации названных солей до 0,15 и 0,015 М соответственно. Полученный раствор добавляли к суспензии клеток (или к супернатанту) в отношении 1:9. Суспензию готовили из тимоцитов белых беспородных крыс-самцов весом 100—120 г по методу Голдфина и др. [8] на среде Хенкса. В экспериментах с облучением тимоциты получали от крыс сразу после их облучения на РУМ-17 в дозе 800 рад, при мощности дозы 90 ± 9 Р/мин, напряжении 20 кВ, силе тока 15 мА, фокусном расстоянии 50 см и фильтрах 0,5 мм меди и 1,0 мм алюминия. Концентрация клеток в инкубационной среде Хенкса варьировала в пределах $1-2 \times 10^8$ клеток/мл. Объем суспензии составлял 30 мл. После получения суспензии ее делили на две равные части, одна из которых служила опытной, а другая — контрольной. В опытную пробирку добавляли ДНК-Н³ до конечной концентрации 16 мкг/мл. После этого обе суспензии инкубировали в одинаковых условиях 90 мин при 37°C в пробирках радиусом 1,5 см при постоянном помешивании со скоростью 2 об/мин и углом наклона к вертикали 45°. Жизнеспособность инкубируемых клеток оценивали по эозиновой пробе [13]. По истечении 90 мин инкубации в контрольную суспензию вносили ДНК-Н³ и обе пробы центрифугировали при 3000 об/мин в течение 5 мин, затем сливали супернатанты в новые пробирки и инкубировали контрольную пробу еще 90 мин при тех же условиях. Таким образом, контрольная проба отличалась от опытной только по времени контакта клеток с экзогенной ДНК (не более 6 мин для контрольной и 96 мин для опытной). Супернатанты наносили на ДЕАЕ бумагу и исследовали хроматографические профили ДНК-Н³ в контрольной (профили 2 на рисунке) и опытной (профили 3) пробирках по методу, позволяющему определять процентное содержание в препарате шести фракций ДНК с воспроизводимостью 2% от суммарной активности [6]. Средний молекулярный вес, элюируемый во фракции I, составлял 5×10^2 дальтон; для II — 2×10^3 дальтон; для III — 5×10^4 дальтон; для IV — 1×10^5 дальтон; для V — 1×10^6 дальтон; для VI — 5×10^6 и более дальтон. Фракции объемом 1,0 мл анализировали на содержание трития с помощью жидкостного сцинтилляционного счетчика «Пикер» методом внешнего стандарта с эффективностью от 10 до 25% в сцинтилляторе обычного состава (3,0 г ППО; 0,3 г ПОПОП; 100 г нафталина; 1 л диоксана).

РЕЗУЛЬТАТЫ ОПЫТОВ

Сопоставление профилей (1а, 1б) исходного препарата неденатурированной ДНК с профилями, образующимися после контакта этого препарата с инкубационными средами как от контрольных (2а), так и от облученных (2б) клеток, показывает, что те и другие выделяют в среду значительное количество нуклеаз, сильно деградирующих субстрат вне пределов клеток. Увеличение при этом кислотонерастворимых продуктов неполной деградации в фракциях III и IV свидетельствует об эндонуклеазном характере ферментативной активности обеих сред. Однако эндонуклеазный спектр экстраклеточной среды облученных клеток отличается от такового для необлученных, что проявляется в различии соответствующих профилей (2а и 2б), состоящем, в частности, в уменьшении выхода кислотонерастворимых фракций I и II с 42%* в контроле до 23% после облучения. Таким образом, рассмот-

*Здесь и далее даны проценты от общей активности препарата, принимаемой за 100%.

ренные профили исходного субстрата (1а, 1б) и его модификации под влиянием экстраклеточных нуклеаз (2а и 2б) позволяют сделать следующий вывод об определенных изменениях нуклеазного баланса клеток после их облучения, несмотря на то, что эндонуклеазный характер активности, присущий экстраклеточным нуклеазам контрольных клеток, сохраняется и после их облучения. Кроме того, профили 2а и 2б дают представление о реальных спектрах молекул ДНК, которые могут взаимодействовать собственно с облученными или контрольными клетками после неравноценно модифицирующего воздействия экстраклеточных нуклеаз. Последнее обстоятельство дает возможность оценить характер нуклеазной реакции контрольных и облученных клеток на непосредственный контакт их с продуктами деградации ДНК в экстраклеточной среде путем сопоставления профилей этих продуктов (2а и 2б) с профилями, образующимися в экспериментах, предусматривающих совместное воздействие экстраклеточных нуклеаз одновременно с воздействием собственно клеток (3а и 3б).

Как видно из сопоставления профилей 2а и 3а, необлученные клетки практически почти ничего не добавляют к деградирующему влиянию среды. Тем не менее, некоторое (5%) уменьшение фракции VI, сопровождающееся столь же незначительным увеличением кислотонерастворимой фракции V (на 2,5%) и кислоторастворимой фракции II (на 2,5%), позволяет усмотреть проявление необлученными клетками слабой эндонуклеазной активности в отношении контактирующих с ними продуктов неполной деградации ДНК. Чувствительность примененного в данной работе метода фракционного анализа препаратов [6] к изменению сплошного спектра молекулярных весов сравнительно невелика, что и обуславливает, на наш взгляд, не очень заметное отклонение профиля 3а от профиля 2а. Тем не менее, обнаруженная тенденция к проявлению слабой эндонуклеазной активности необлученных клеток, взаимодействующих с ДНК-фрагментами, полностью соответствует выводам, сделанным нами ранее на основании экспериментов с необлученными тимоцитами к гомологичной ДНК, построенными по аналогичному принципу, но с использованием более чувствительного метода колоночной хроматографии [2].

В отличие от необлученных клеток, облученные существенно дополняют деградирующий эффект среды, что следует из сопоставления кривых 3а и 2б на рисунке: прирост кислоторастворимых фракций I и II составляет 20%, что в 8 раз выше результата, полученного с контрольными клетками. При этом, в отличие от необлученных клеток, во всех остальных кислотонерастворимых фракциях наблюдается только уменьшение содержания ДНК (в III — на 7%, в IV — на 5%, в V — на 5% и в VI — на 3%), что позволяет уверенно классифицировать реакцию облученных клеток, взаимодействующих с ДНК-фрагментами, как экзонуклеазную. Таким образом, следует констатировать, что несмотря на кажущуюся идентичность степени деструкции исходного препарата (1а, 1б) в опытах с необлученными (3а) и облученными (3б) клетками, поправка на долю деструкции, обеспечиваемую эндонуклеазами среды (не имеющими прямого отношения к деградирующему влиянию собственно клеток на ДНК-фрагменты при их взаимодействии), позволяет выявить непосредственно в облученных клетках экзонуклеазную активность, значительно превышающую по выходу кислоторастворимых фракций I и II даже суммарную нуклеазную активность, проявляемую контрольными клетками.

Возникает вопрос о том, является ли повышение нуклеазной активности непосредственно в клетках лишь следствием пострадиационных нарушений проницаемости в органеллах и компартментах, или

это вызвано необходимостью более эффективной деструкции проникающего в клетки информационного материала, который в условиях предварительного облучения последних способен представить угрозу их жизнеспособности [3]. Принимая во внимание то обстоятельство, что из-за сильного деградирующего влияния среды, клетки в условиях нашего эксперимента контактировали не с идеальными биспиральными молекулами, а со смешанными би- и односпиральными формами, следовало прежде всего выяснить, какая из этих двух форм является объектом экзонуклеазной активности, возникающей в облученных клетках. С этой целью были поставлены аналогичные эксперименты с препаратом денатурированной ДНК, в котором содержание двунитевых форм пренебрежимо мало, хотя и возможно теоретически [14], при условии использования препарата в первые 10 мин после приготовления. Поэтому, в соответствии с задачей настоящего исследования, результаты, полученные с денатурированными нами препаратами, можно рассматривать как следствие взаимодействия клеток практически только с однопонитевыми формами.

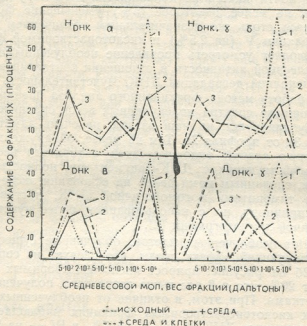


Рис. Спектры молекулярного веса нативной (а, б) и денатурированной (в, г) ДНК-Н⁹ в среде после инкубации с клетками (3), в присутствии продуктов их жизнедеятельности (2), и исходные — до инкубации (1). По оси ординат: процентное содержание ДНК во фракциях с различным молекулярным весом. По оси абсцисс: средний молекулярный вес во фракциях: 5×10^2 ; 2×10^3 ; 5×10^4 ; 1×10^5 ; 5×10^6 и более *дальтон* (профили 1, 2, 3 построены по усредненным данным 4 экспериментов)

Как и следовало ожидать, при значении среднего молекулярного веса исходного нативного препарата, равном 1×10^7 *дальтон*, часть молекул при денатурации дает однопонитевые формы со средним молекулярным весом не менее 5×10^6 *дальтон*, которые при хроматографическом разделении сохраняют свое положение во фракции VI (Iв и Iг). Однако вполне естественно то, что процентное содержание нуклеинового материала во фракции VI снижается при денатурации с 68 до 49%,


так как часть двуниевых молекул со средним молекулярным весом не менее 5×10^6 дальтон при денатурации переходит во фракцию V со значением этого параметра, равным 1×10^6 дальтон. Это происходит в связи с тем, что в части молекул реальных препаратов всегда содержатся одонитевые разрывы, которые и приводят при разделении нитей к уменьшению молекулярного веса более, чем в два раза. О наличии таких дефектов первичной структуры в использованном препарате свидетельствует то, что при денатурации возрастает количество мономеров в препарате с 10% до 23% (фракция I). В целом профиль Ig и Id вполне соответствуют тем изменениям, которые можно ожидать при практически полной денатурации препарата со средним молекулярным весом 1×10^7 дальтон, имеющим профиль Ia и Ib.

Применяя принцип анализа данных для рис. в и г аналогично тому, как это было сделано для рис. а и б, ограничимся при этом только выявлением нуклеазной активности клеток при их непосредственном взаимодействии с одонитевой ДНК.

Как следует из сравнения кривых 2 и 3 (рис. г), нормальные клетки обладают определенной экзонуклеазной активностью в отношении одонитевых молекул, исчисляемой приростом кислоторастворимых фракций I и II на 15%. Эта активность усиливается после предварительного облучения клеток (г, кривые 2 и 3) до 30% прироста во фракциях I и II. Этот факт дает основание предположить, что мишенями для экзонуклеаз облученных клеток, контактирующих с ДНК, не подвергавшимися специальной тепловой денатурации в опытах (рис. б), служили одонитевые структуры в составе биспиральных форм. Однако, как уже было отмечено, одонитевые структуры в достаточном количестве способны сами по себе, без предварительного облучения клеток-реципиентов, индуцировать экзонуклеазную реакцию, что вытекает из данных рис. в (кривые 2 и 3). Следовательно, интерпретация возникновения экзонуклеазной активности после облучения клеток (кривые 2 и 3 на рис. б) при контакте их с препаратами, не подвергавшимися специальной денатурации, только с позиций пострадиационной деструкции мембран или распада неактивных ферментных комплексов и т. д. была бы неправильной. Вероятно, это явление можно рассматривать как следствие сочетания двух условий: радиационного повреждения клеток и последующего их контакта с молекулами, имеющими одонитевые участки-индукторы экзонуклеазы, т. е. как функциональное событие, направленное на защиту ослабленной повреждением клетки от проникновения молекул с нарушениями вторичной структуры. Известно, что дефекты вторичной структуры ДНК могут определять ее информационную активность [11], а также цитотоксические свойства [4], поэтому есть все основания считать, что молекулы экзогенной ДНК могут представлять угрозу для клеток именно на определенной стадии собственной деградации, в отличие от идеальных биспиральных молекул, искусственное введение которых в клетку не сопровождается как заметной их деструкцией в течение длительного времени, так и ухудшением состояния реципиентных клеток [9].

ЛИТЕРАТУРА

1. Федорова Т. А., Терещенко О. Я., Мазурик В. К. Нуклеиновые кислоты и белки в организме при лучевом поражении, «Медицина», М., 1972, 332—352.
2. Шутко А. Н., Шатинина Н. Н. Цитология, XV, 1395—1398, 1973.
3. Шутко А. Н., Шатинина Н. Н. Цитология, XVII, 272—274, 1975.

- 
4. Шутко А. Н., Шатинина Н. Н., Екимова Л. П., Рябченко Н. И. Тез. Всес. конф. «Механизмы действия радиации на биологические мембраны и возбудимые системы», «Мецнпереба», Тбилиси, 1976, 97—98.
 5. News and views, Nature, 229, 156—157, 1971.
 6. Davila C., Charles P., Ledoux J. J. Chromatogr., 8, 733—741, 1969.
 7. Doppler-Bernardi F., Felzenfeld A. Biopolymers, 19, 693—741, 1969.
 8. Goldfine J., Gardner J. D., Neville D. M. J. Biol. Chem., 247, 6919—6926, 1972.
 9. Gurdon J. B. Nature, 248, 772—776, 1974.
 10. Кертцова J. Studia Biophys., 42, 119—126, 1974.
 11. Palechek. E. Studia Biophys., 50, 177—201, 1975.
 12. Petrovič D., Ferle-Vidovič A., Habazin V., Vukovič B. Int. J. Rad. Biol., 18, 3, 243—258, 1970.
 13. Schrek P. Radiobiology, 46, 395—410, 1946.
 14. Shisido K., Ikeda Y. J. Biochem., 67, 759—765, 1970.

ეგზოგენურ დნმ-თან ურთიერთგომამადი უჯრედების
ნეპლემეაური აქტივობა

ა. შუტკო, ნ. შატინინა, ლ. ეკიმოვა

სსრკ ჯანმრთელობის დაცვის სამინისტროს ცენტრალური რენტგენორადიოლოგიური ინსტიტუტი, ლენინგრადი

რ ე ზ ი უ მ ე

იონცვლადი ქრომატოგრაფიის მეთოდით შესრულებულია უჯრედის ცხოველმომქმედების პროდუქტების ან თვით უჯრედების შემცველ გარემოში ინკუბირებული ნატივური და დენატურირებული 3H-დნმ-ის მოლეკულური წონების ფარდობითი ანალიზი. ნაჩვენებია, რომ ერთჯაჭვოვანი დნმ და ორჯაჭვოვანი დნმ-ში შემავალი მისი უბნები აღძრავენ ეგზონუკლეაზურ აქტივობას, რომელიც ძლიერდება უჯრედების წინასწარი დასხივებით.

NUCLEASE ACTIVITY OF CELLS INTERACTING WITH
EXOGENOUS DNA

A. N. SHUTKO, N. N. SHATININA, L. P. EKIMOVA

Central Institute of Roentgeno-Radiology, USSR Ministry of Health, Leningrad

S u m m a r y

By the method of ion-exchange chromatography a comparative analysis has been made of molecular weight spectra of native and denatured DNA-H³, incubated in the medium containing the products of the cell vital activity or the cells themselves. One-strand DNA or its sites in double-strand DNA were shown to induce the exogenous activity which enhances during preirradiation of the cells.

УДК 612.822.1

БИОХИМИЯ

ИДЕНТИФИКАЦИЯ ФРАКЦИИ БЕЛКОВ СИНАПСОСОМАЛЬНЫХ МЕМБРАН, СВЯЗАННОЙ С ЯВЛЕНИЯМИ ПАМЯТИ

Е. Э. Клейн, И. С. Чоговадзе

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

Поступила в редакцию 29.6.1977

Проверялось предположение о холинорецептивной природе одной из фракций белков синаптосомальных мембран («син-3»), сделанное авторами ранее на основании косвенных данных. Фракция эта имеет (согласно результатам прежних работ авторов) отношение к механизмам памяти. В данной работе методом радиоактивной индикации, а именно по связыванию фракцией тритированного ацетилхолина ($[^3\text{H}]\text{АХ}$), указанное предположение было подтверждено. Однако, кроме холинорецептора, фракция содержит другие компоненты (пока неизвестной природы), которые, возможно, также связаны с явлениями памяти.

В предыдущих публикациях сообщалось, что исследованиями последних лет среди мембранных белков синаптосом нами была обнаружена фракция, по-видимому, участвующая в механизме памяти. Ее количество снижалось после воздействий, ингибирующих память, а также (по предварительным данным) увеличивалось при обучении [2, 3, 4]. Некоторые ее свойства — локализация в «тяжелых» мембранах синаптосом, аминокислотный состав (коэффициенты соотношения аминокислот по Баррантесу) вызвали предположение о холинорецептивной природе данного белка.

Для интерпретации его роли в явлениях памяти была необходима проверка правильности этого заключения. Известно, что участие синаптических рецепторов в мнестических процессах давно предполагается многими исследователями [1, 8].

Наиболее надежно удостовериться в холинорецепторной природе белка можно применив метод радиоактивной индикации. При этом для идентификации холинорецепторного белка общепринято пользоваться следующими приемами: 1) измерять связывание с этим белком специфического токсина (α -бунгаротоксин, кобротоксин), снабженного радиоактивной меткой; 2) определять связывание белком меченного таким же образом ацетилхолина (АХ); 3) выделять белок путем аффинной хроматографии, употребляя специфические лиганды.

Подобных исследований выполнено разными исследователями очень много [5, 10, 14].

Однако мы не могли воспользоваться вышеуказанными методами в основном из-за того, что для них требуется значительное количество белка (миллиграммы), которым авторы располагали, так как все эти работы выполнены на материале электрического органа (угря или ската). Нам же нужно было исследовать синаптосомальные белки мозга крыс, откуда можно получить только микрограммовые количества интересующей нас фракции. И к тому же данная фракция находилась, по ус-

ловиям опыта, в акриламидном геле (в фореграмме), извлечение которого связано с большими потерями.

Поэтому нам пришлось применить прием, несколько отличающийся от указанных выше, но в принципе аналогичный равновесному диализу с $[^3\text{H}]\text{АХ}$, использованному Эльдефрави [9]. Наша модификация метода описана ниже*.

МЕТОДИКА

Производилось выделение синапсомальной фракции из мозга крыс, экстракция белков тритоном-Х-100, электрофорез на 8% ПАГ при 150 В, окрашивание электрофореграммы амидошварцем и денситометрическая ее оценка на микрофотомере Ж-2 приемами, указанными в предыдущих работах [3, 4].

Часть полученных фореграмм окрашивалась для определения местоположения фракций. Из других вырезались куски, соответствующие интересующим нас фракциям, одновременно брались аналогичные участки из «слепой» фореграммы, в которой электрофорез проводился без белка. При взятии все эти куски, с помощью специального приспособления, снабженного микрометром, нарезались на диски толщиной в 1 мм. Эти диски подвергались анализу.

Для обработки белков $[^3\text{H}]\text{АХ}$ были применены два варианта метода.

а) Тритоновый экстракт синапсом перед электрофорезом инкубировался с $[^3\text{H}]\text{АХ}$. Инкубация длилась 1 час на холоду. После электрофореза из фореграмм вырезали нужные фракции, как было описано выше, помещали в сцинтилляционную жидкость и определяли их активность.

б) Электрофорезу подвергался экстракт необработанный $[^3\text{H}]\text{АХ}$. После электрофореза, вырезанные из фореграмм нужные фракции, инкубировали с $[^3\text{H}]\text{АХ}$. В этом случае инкубация длилась на холоду сутки. Именно этот вариант аналогичен в принципе равновесному диализу, о котором говорилось выше. При инкубации белок из геля не переходит в инкубационную среду (это проверено экспериментально), $[^3\text{H}]\text{АХ}$ свободно входит в гель; устанавливается равновесие концентраций свободного АХ. Связанный же АХ остается в геле, что дает возможность определить его количество.

После инкубации в АХ гелевые диски обсушивались фильтровальной бумагой и переносились для экстракции в сцинтилляционную жидкость на 3 суток (этот срок, обеспечивающий максимальную экстракцию $[^3\text{H}]\text{АХ}$, определен экспериментально). Основные выводы настоящей работы сделаны из данных, полученных при применении именно этого варианта методики.

Условия инкубации с $[^3\text{H}]\text{АХ}$ взяты из работ Эльдефрави [9], но был применен рингер для теплокровных по Этерович [11]. Концентрация АХ = 1 мкМ. Часть образцов подвергалась предынкубации с кобротоксином $5,6 \times 10^{-9}$ М в течение 30 мин [9].

Препарат $[^3\text{H}]\text{АХ}$ употреблялся с УА = 250 мкюри/ммоль. Из него, без разбавления неактивным АХ приготавливался 1 мкМ раствор для ин-

* Эксперименты с использованием $[^3\text{H}]\text{АХ}$ были нами проведены в лаборатории Института кардиологии при участии проф. Н. В. Қарсанова и мл. научн. сотр. Н. Эдишерашвили, за что мы выражаем им свою благодарность. Препарат нейротоксина из яда среднеазиатской кобры, аналогичный α -бунгаротоксину, был любезно предоставлен проф. Б. А. Ташмухамедовым из Института биохимии АН Уз. ССР (Ташкент), за что также благодарим его.

кубации, активность которого была 9—10,000 *имп/мин*/0,1 *мл* и проводилась в каждом опыте.

В качестве сцинтилляционной жидкости применялся «тритозол», жидкость на основе тритона-X-100, позволяющая вводить в образец для счета до 3 *мл* воды [12].

В опытах были следующие варианты: 1) «слепой» — раствор без-белковый; 2) белковый экстракт необработанный токсином; 3) такой же экстракт предынкубированный с токсином. Все остальные условия опытов в этих вариантах были одинаковы. [^3H]АХ присутствовал везде. При обсуждении результатов, рассматриваются величины разностей между этими вариантами. При этом, для краткости, применяются следующие обозначения: разность между вторым и первым вариантами — «Б—С» (белок без токсина минус «слепой») — величина, выражающая общее связывание; разность между вторым и третьим — «Б—БТ» (белок без токсина минус белок с токсином) — связывание специфическое, блокируемое токсином.

Результаты анализа образца, получаемые в виде количества *имп/мин*, пересчитывались на количество нанограммов АХ, связанного 100 *мкг* белка. Этот показатель (*нг* [^3H]АХ/100 *мкг* белка) дается на приводимых диаграммах.

Статистическая обработка полученных данных производилась разностным методом [6]. Определялась достоверность разности активностей изучаемых фракций, величина которых выражена в %. Средняя разность «М» и ее ошибка «*m*» изображены на диаграммах. Там же указывается существенность различия Р при критерии *t*.

ПОЛУЧЕННЫЕ РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

В первоначальных опытах был использован вариант методики «а», т. е. производилась инкубация белков синапсомембранных мембран с [^3H]АХ, а затем электрофорез и измерение радиоактивности полученных фракций. Интересующая нас фракция «син-3» (третья фракция) сравнивалась с соседними «син-4—6» (четвертой, пятой, шестой фракциями, взятыми суммарно). Положение этих фракций на электрофореграмме показано на рис. 1.



Рис. 1. Положение исследуемых фракций на электрофореграмме белков синапсомембранных мембран. Указаны участки электрофореграммы, которые брались для анализа: 1 — фракция «син-3»; 2 — фракции «син-4-6» (суммарно)

На рис. 2 даются разности между активностью образца фракции, подвергнутого обработке [^3H]АХ, и того образца, который предварительно инкубировался с кобротоксином, т. е. разность «Б—БТ» для обоих изучавшихся белковых фракций. Величина этой разности для «син-3» намного (в 7 раз) превышает такой же показатель для соседних фракций: 0,161 и 0,023 соответственно. Расчет этих величин сделан на единицу белка и на одинаковый вес геля, поэтому разница в количестве удерживаемого [^3H]АХ определяется только блокирующим действием кобротоксина, которое, как известно, специфично для ацетилхолинорецептора (АХР), а именно его никотиновой формы (нАХР). Но так как по последним данным в мозгу находятся обе формы АХР — и мускариновая и никотиновая [7, 13, 15], то, следовательно, полученные данные,

свидетельствующие о наличии НАХР, могли послужить указанием на присутствие во фракции «син-3» обоих типов рецептора.

Некоторое сомнение вызывало то обстоятельство, что само количество удержанного $[^3\text{H}]\text{АХ}$, по сравнению с внесенным в электрофореграмму, слишком низко: было внесено 0,1 м.л. раствора, дающего 10.000 имп/мин \cong 16 нг $[^3\text{H}]\text{АХ}$; было обнаружено во фракциях 200—300 имп/мин/образец \cong 0,4 нг $[^3\text{H}]\text{АХ}$.

нг АХ / 100 мг белка

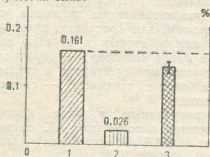


Рис. 2. Количество связанного $[^3\text{H}]\text{АХ}$ в участках электрофореграммы, соответствующих исследуемым фракциям. Электрофорез экстракта, инкубированного с $[^3\text{H}]\text{АХ}$. Показана разность «Б—БТ»: 1 — «син-3»; 2 — «син-4-6»; 3 — средняя разность между «1» и «2», выраженная в % от «1» = $M \pm m = 83,9 \pm \pm 5,2$; $P < 0,01$

Мы предположили, что такое несоответствие объясняется тем, что $[^3\text{H}]\text{АХ}$, связанный при инкубации белком, в процессе следующего за ней электрофореза отрывается под воздействием электрического поля. Для проверки мы поставили опыт с измерением активности геля по всей длине фореграммы после электрофореза, инкубированного с $[^3\text{H}]\text{АХ}$ белкового экстракта, а также «слепого», т. е. безбелкового раствора.

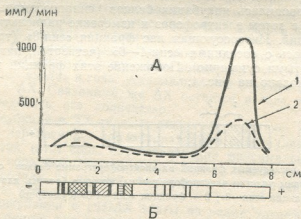


Рис. 3. Распределение $[^3\text{H}]\text{АХ}$ на электрофореграмме. Электрофорез после инкубации экстракта с $[^3\text{H}]\text{АХ}$: А — распределение $[^3\text{H}]\text{АХ}$; Б — распределение белковых фракций; 1 — белковый экстракт; 2 — контроль (безбелковый раствор)

Фореграмма разрезалась на 4 куска, активность их экстрактов была измерена. Результаты изображены на рис. 3, где активность отрезков фореграммы (А) сопоставлена с расположением белковых фракций (Б). Оказалось, что основное количество внесенного $[^3\text{H}]\text{АХ}$ локализовано за белковой зоной (отрезок 6—8 см), где должен находиться свободный АХ. Только некоторое количество его остается в зоне «син-3» (в отрезке 0—2 см). В «слепом» геле пик $[^3\text{H}]\text{АХ}$ гораздо ниже. По-ви-

димому, высокий пик свободного $[^3\text{H}]\text{АХ}$ на белковой фореграмме объясняется тем, что АХ «сорван» с белка во время электрофореза.

Поэтому для дальнейших опытов мы применили вариант методики «б», т. е. сначала фракционирование синапсомальных белков на ПАГ, затем прединкубацию срезов ПАГ, содержащих нужные фракции, с кобротоксином и инкубацию их с $[^3\text{H}]\text{АХ}$. Результаты показаны на рис. 4.

Как и следовало ожидать, в этом случае концентрация $[^3\text{H}]\text{АХ}$ в образцах геля оказалась намного выше, чем в первом: 30—40 000 имп/милл/образец вместо 200—300. Существенно то, что в этом случае выше не только суммарная концентрация АХ в образце, но и количество АХ, связанного белком, т. е. разность «Б-БТ» (белок без токсина минус белок с токсином) для фракции «син-3» намного больше в этом варианте, чем в варианте «а» (9,2 вместо 0,161 $\mu\text{г}/100$ $\mu\text{г}$ белка). Это является, по-видимому, следствием отсутствия потери связанного АХ во время опыта (что имело место в варианте «а»).

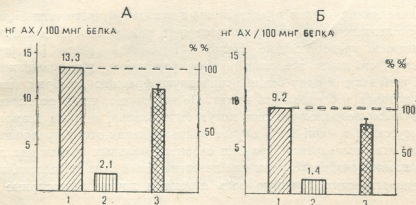


Рис. 4. Количество связанного $[^3\text{H}]\text{АХ}$ в фракциях «син-3» и «син-4-6». Электрофорез экстракта необработанного $[^3\text{H}]\text{АХ}$. Инкубация $[^3\text{H}]\text{АХ}$ срезов электрофореграммы: А—«Б-С»; Б—«Б-БТ»; 1—«син-3»; 2—«син-4-6»; 3—средняя разность между «1» и «2», выраженная в % от «1»= $M \pm m$. Для А: $M \pm m = 84,3 \pm 4,9$; $P < 0,001$; Для Б: $M \pm m = 79,4 \pm 5,5$; $P < 0,001$

Приводимые на рис. 4 данные показывают, что разность «Б-БТ» для фракции «син-3» в среднем на 84,3% выше, чем для соседних фракций, т. е. почти на такую же величину, как в варианте «а». Это убедительно подтверждает первоначально полученные данные о присутствии специфического белка именно в третьей фракции. В соседних фракциях, т. е. «син-4-6» небольшое количество этого же белка могло быть захвачено при разрезании геля.

Данные, изображенные на рис. 4, свидетельствуют о том, что разность «Б-С» (общее связывание) превышает «Б-БТ» (связывание специфическое). Для «син-3» эти величины равны 13,3 и 9,2 соответственно.

Следовательно, связывание АХ белком «син-3» блокируется кобротоксином не полностью. Это объясняется, по всей вероятности, двумя причинами: во-первых, присутствием мускариновой формы АХР, которая, как было сказано выше, должна соседствовать на электрофореграмме с никотиновой, а во-вторых — наличием в «син-3» других гидрофобных белков нехолинорецепторной природы, многие из которых, как известно, способны удерживать АХ неспецифически [10, 14].

Указания о неоднородности фракции «син-3» были получены нами и ранее, на основании скрашивания фореграммы гистохимическими

красителями [3, 4]. Это подтвердилось и данными настоящей работы, позволившими сделать примерный расчет содержания белка АХР во фракции. Оно составило около 10%. Такой расчет сделан на основе следующих показателей: полученной нами величины связывания АХ фракцией «син-3», т. е. 13,6 нг АХ/100 мкг белка; величины молекулярного веса АХР, по литературным сведениям равной 50—80.000 (сведения разных авторов различаются), и литературных указаний о том, что связывание АХ рецептором происходит в соотношении *моль на моль* [5, 10, 14].

Таким образом, мы пришли к заключению, что, во-первых, в исследованной нами фракции белков синапсомембранных мембран находится АХР, а во-вторых, что этот рецептор является только частью фракции.

Какие именно белки представлены в остальной части «син-3» пока остается неизвестным, однако на этот счет можно сделать достаточно обоснованное предположение. Недавно появилась работа [7], показывающая, что почти все синаптические рецепторы, при фракционировании, попадают в одну седиментационную фракцию мембран (именно ту, которая исследовалась нами). Не исключено, что и по электрофоретической подвижности они могут быть близки, и тогда возможно их присутствие в «син-3». В случае подтверждения этого предположения значение исследуемой фракции синапсомембранных белков для процессов памяти возрастает, так как известно, что в этих процессах, кроме холинэргических, большую роль играют и другие рецепторные системы.

ЛИТЕРАТУРА

1. Ильюченко Р. Ю. Фармакология поведения и памяти, Новосибирск, 1972.
2. Клейн Е. Э. В сб.: *Вопр. биохимии нервной и мышечной систем*, «Мециереба», Тбилиси, 1972, 41—56.
3. Клейн Е. Э., Чоговадзе И. С. *Сообщения АН ГССР*, 75, 1, 181—184, 1974.
4. Клейн Е. Э., Чоговадзе И. С., Заалишвили Э. А. *Изв. АН ГССР, сер. биол.* 1, 1, 39—45, 1975.
5. Коваленко З. А. В сб.: *Природа холинорецептора и структура его активного центра*, Пушино, 1975, 6—21.
6. Ойвинн И. А. *Пат., физиол. и эксперим. терапия*, 4, 76—85, 1959.
7. de Blas A., Mahler H. R. *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, 72, 1, 24—32, 1976.
8. Deutsch I. A., Weiner N. I. J. *Comp. Physiol. Psychol.*, 69, 179—186, 1969.
9. Eldefrawi M. E., Eldefrawi A. T., Seifert S., O'Brien R. D. *Arch. Biochem. Biophys.*, 150, 210—218, 1972.
10. Eldefrawi M. E., Eldefrawi A. T. *Arch. Biochem. Biophys.*, 159, 1, 362—373, 1973.
11. Eterovič V. A., Bennett E. L. *Biochim. Biophys. Acta*, 362, 2, 346—355, 1974.
12. Frick U. *Anal. Biochem.*, 63, 2, 555—558, 1975.
13. Giorgiueff M. F., LeFloch M. L., Glowinski J., Besson M. J. *J. Pharmacol. Exp. Therap.*, 200, 3, 535—544, 1977.
14. Karlin A. *Life Sci.*, 14, 1385—1415, 1974.
15. Speth R. C., Chen F. M., Lindstrom J. M., Kabajashi R. M., Jamamura H. J. *Brain Res.*, 131, 2, 350—355, 1977.

მ. კლიინი, ი. ჩოგოვაძე

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

რ ე ზ ი უ მ ე

შესწავლილია სინაპტოსომალური ემემბრანების ცილების ერთ-ერთი
ფრაქცია, რომელსაც პირობითად „სინ-3“ ეწოდა. ავტორთა ადრეული მონა-
ცემების თანახმად ეს ფრაქცია მონაწილეობს მეხსიერების მექანიზმში. ავტორ-
თა მიერ გამოთქმული იყო მოსაზრება ფრაქციის ქოლინორეცეპტორული ბუ-
ნების შესახებ.

აღნიშნულ შრომაში ეს მოსაზრება შემოწმდა რადიოაქტიური ინდიკაცი-
ის მეთოდით, ტრიტირებული აცელილქოლინის დაკავშირების მიხედვით. ზემო-
აღნიშნული მოსაზრება გამართლდა. აღნიშნული ფრაქცია მთლიანად ქოლი-
ნორეცეპტორისაგან არ შესდგება. ჩატარებული გამოთვლების საფუძველზე გა-
მოთქმულია მოსაზრება, რომ აღნიშნული ფრაქციის ჯერჯერობით უცნობი ბუ-
ნების დანარჩენი კომპონენტები, დაკავშირებულნი უნდა იყვნენ მეხსიერების
პროცესებთან.

IDENTIFICATION OF PROTEIN FRACTION FROM SYNAPTOSOMAL MEMBRANES RELATED WITH MEMORY

H. E. KLEIN, I. S. CHOGOVAZDE

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

S u m m a r y

One of the protein fractions of nerve ending, called "sin-3" was examined. The earlier results, obtained by the authors indicates, that this protein fraction takes a part in the mechanism of the memory. There is a supposition that this fraction is a part of the cholinoreceptor. This supposition was verified by using the method of radioactive labelling.

This fraction does not consist entirely of cholinoreceptor. A special calculation affirms that the other components of this fraction also takes a part in the mechanism of memory, but these components are of unknown nature.

ждалось электрокардиографически и микроморфологически. Исследования активности ферментов проводили в гомогенатах сердечной мышцы, печени и почек у интактных животных и спустя 24 и 44 ч после воспроизведения ЭИМ. Активность кислого дефосфорилирования АТФ, АДФ и АМФ исследовали по методу Огино с соавторами [14]; активность кислой фосфатазы — по методу Матцунага с соавторами [13]; активность кислой рибонуклеазы — по методу Ромео с соавторами [17]. Неорганический фосфор определяли по методу Тауссаки и Шор [22]. Полученные результаты обработаны методом вариационной статистики.

РЕЗУЛЬТАТЫ

В результате проведенных исследований (таблица) было обнаружено, что через 24 ч после воспроизведения ЭИМ в гомогенатах сердечной мышцы активность кислой фосфатазы, кислой РНКазы и кислого дефосфорилирования АТФ (кислая АТФазная активность) падает по сравнению с контрольными данными. При этом наиболее значительно уменьшается активность кислой АТФазы. Активность кислого дефосфорилирования АДФ (кислая АДФазная активность) за этот же период исследования возрастает, а активность кислого дефосфорилирования АМФ (кислая АМФазная активность) не претерпевает существенных изменений. Через 44 ч после перевязки коронарной артерии активность кислой фосфатазы продолжает падать. Активность кислой РНКазы и кислой АТФазы несколько возрастает, но разница между данными опытной и контрольной групп остается статистически достоверной. При этом следует отметить, что, несмотря на увеличение, активность кислой АТФазы составляет около 52% активности контрольной группы, тогда как активность кислой фосфатазы за этот же период исследования составляет около 70% контрольного уровня. Активность кислого дефосфорилирования по отношению к АДФ продолжает расти и к 44 ч после перевязки коронарной артерии достигает наибольшей величины в течение всего эксперимента. Активность кислого дефосфорилирования по отношению к АМФ падает и составляет около 46% активности контрольной группы.

В гомогенатах печени через 24 ч после воспроизведения экспериментального инфаркта миокарда активность всех ферментов уменьшается по сравнению с контрольными данными (за исключением активности кислой АМФазы, которая не изменяется). Следует отметить, что из всех изменений активности ферментов наиболее значительны изменения активности кислой РНКазы, которая снижается до 63% уровня контрольных данных. Через 44 ч после воспроизведения инфаркта миокарда в эксперименте активность всех изученных ферментов возрастает по сравнению с предыдущей опытной группой. Отмечаемая величина активности кислой фосфатазы и кислой АМФазы выше контрольных величин.

В гомогенатах почек через 24 ч после воспроизведения экспериментального инфаркта миокарда достоверные изменения претерпевает лишь активность кислой АТФазы, которая снижается, и активность кислой фосфатазы, которая увеличивается по сравнению с контрольными данными. Активность остальных изучаемых ферментов существенных изменений не претерпевает. В дальнейшем активность кислой АТФазы увеличивается и через 44 ч после перевязки коронарной артерии достигает контрольной величины, а активность кислой фосфатазы продолжает увеличиваться. В этот же период отмечается падение активности кислой АДФазы. Изменения активности кислой

Активность кислых гидролаз в гомогенатах сердечной мышцы, печени и почек при экспериментальном инфаркте миокарда
 (мкмольР/мин/г; кислая РНКаза—Е₂₂₀—e/мин)

Ферменты	Сроки ЗММ	Сердечная мышца				Печень				Почки			
		контрольная группа		опытная группа		контрольная группа		опытная группа		контрольная группа		опытная группа	
		n	M ± m	n	M ± m	n	M ± m	n	M ± m	n	M ± m	n	M ± m
Кислая фосфатаза	24 ч	7	0,329 ± 0,009	6	0,451 ± 0,011 < 0,025	7	1,492 ± 0,070	8	1,305 ± 0,048 < 0,01	7	2,570 ± 0,098	7	2,880 ± 0,100 < 0,05
	44 ч			8	0,369 ± 0,032 < 0,01			12	1,535 ± 0,134 < 0,01			11	3,365 ± 0,120 < 0,001
Кислая РНКаза	24 ч	11	2,300 ± 0,167	9	1,530 ± 0,167 < 0,01	10	3,767 ± 0,367	10	2,367 ± 0,133 < 0,001	11	3,900 ± 0,300	3	3,667 ± 0,100 > 0,10
	44 ч			8	1,750 ± 0,117 < 0,025			12	2,967 ± 0,167 < 0,025			10	3,933 ± 0,267 > 0,10
Кислое дефосфоризи- вание АТФ (кислая АТФаза)	24 ч	9	0,623 ± 0,036	8	0,218 ± 0,021 < 0,001	15	0,987 ± 0,068	11	0,665 ± 0,071 < 0,01	10	1,465 ± 0,100	8	1,195 ± 0,069 < 0,05
	44 ч			8	0,322 ± 0,036 < 0,002			9	0,821 ± 0,058 > 0,10			9	1,372 ± 0,080 > 0,10
Кислое дефосфоризи- вание АДФ (кислая АДФаза)	24 ч	13	0,592 ± 0,028	8	0,779 ± 0,034 < 0,001	13	1,558 ± 0,160	7	1,039 ± 0,029 < 0,001	8	4,737 ± 0,144	9	5,008 ± 0,215 > 0,10
	44 ч			7	1,049 ± 0,073 < 0,001			11	1,413 ± 0,060 > 0,10			10	4,270 ± 0,143 < 0,05
Кислое дефосфоризи- вание АМФ (кислая АМФаза)	24 ч	10	0,114 ± 0,007	9	0,145 ± 0,015 < 0,05	10	0,436 ± 0,036	9	0,457 ± 0,045 > 0,10	11	1,413 ± 0,038	8	1,247 ± 0,064 < 0,05
	44 ч			8	0,052 ± 0,004 < 0,001			8	0,773 ± 0,077 < 0,001			8	1,496 ± 0,090 > 0,10

РНКазы и кислой АМФазы через 44 ч после воспроизведения ЭИМ по сравнению с контрольными данными не существенны.

В результате проведенных исследований у интактных животных в сердечной мышце, печени и почках выявлено различное распределение активности отдельных ферментов (таблица). При этом наименьшая активность всех изучаемых ферментов наблюдается в миокарде. Аналогичные результаты были получены Гемба [9] по отношению к активности кислой фосфатазы, катепсинов и β -глюкуронидазы. Однако автор пришел к выводу, что различие в распределении ферментной активности не может быть объяснено существующим различием между гканями, а также легкостью или сложностью гомогенизации. Таким образом, полученные нами данные совпадают с данными некоторых исследователей [2], которые считают миокард, в отличие от других органов, например печени, относительно бедным лизосомами.

Сопоставляя полученные результаты изменений активности ферментов в опытных группах при воспроизведении ЭИМ, нами было выявлено изменение активности кислых гидролаз не только в сердечной мышце, но и в печени и в почках. Следовательно, можно предположить, что в условиях экспериментально воспроизведенного нами инфаркта миокарда весь организм реагирует на данный повреждающий фактор. При этом следует отметить, что нарушение сократительной способности миокарда приводит к нарушению кровообращения, что в свою очередь не может не отразиться на обмене веществ других органов в результате развития в них гипоксии. Нарушение метаболизма в этих органах сопровождается изменением активности ряда ферментных систем, в том числе кислых гидролаз. Изменение активности кислых гидролаз в печени и почках в совокупности с возможностью ферментов этой группы гидролизовать внутриклеточное содержимое может свидетельствовать о возникновении нестабильности лизосом до появления некроза и гибели клетки, что в дальнейшем может повлечь поражение данной клетки. Данные о том, что лизосомы могут инициировать поражение клетки, были подтверждены исследованиями, которые выявили нестабильность лизосом в ткани правого желудочка после перевязки коронарной артерии [3, 15]. В этом аспекте определенный интерес представляет сравнение наших данных изменения активности кислых гидролаз, выявленных биохимическими методами, с микроморфологическими исследованиями, проведенными с целью контроля над степенью поражения того или иного органа. В участках миокарда, удаленных от очага некроза, в печени и почках отмечалось лишь нарастание дистрофических процессов. Следовательно, полученные нами результаты подтверждают мнение тех исследователей, которые отмечают изменение активности кислых гидролаз до возникновения в клетках организма необратимых процессов [15, 16] как следствие дестабилизации мембран лизосом.

Существует несколько взглядов на механизм нарушения функциональной активности лизосом, стабильность ее мембран и изменение активности гидролитических ферментов. Один из них связан с возрастанием кислотности клетки. Возможности инициирования постепенного освобождения кислых гидролаз в результате нарушения стабильности лизосомальных мембран в связи с падением клеточного рН посвящен ряд работ [1, 8, 19, 21]. Как известно, значительный дефицит кислорода, возникающий при ишемическом поражении органа, вызывает переключение клеточного метаболизма на анаэробные процессы. Связанное с данным явлением образование молочной кислоты может уменьшить клеточный рН до уровня, лежащего в пределах действия лизосомальных гидролаз. Кроме того, уменьшение клеточного рН в сердечной

мышце может привести к торможению гликолитических процессов, к дальнейшему уменьшению образования АТФ, сократительной способности сердечной мышцы, снижению pO_2 , нарушению гемодинамики. Возникшие нарушения, по всей видимости, еще более усугубляют процесс дестабилизации лизосомальных мембран не только в миокарде, но и в других органах. При этом освобождение гидролитических ферментов может происходить уже как реакция на кислоты в результате снижения pO_2 , а не как реакция на собственно гипоксию.

В наших исследованиях было обнаружено более раннее и значительное изменение активности кислой АТФазы. Исходя из этого, интерес представляет сопоставление изменений активности кислой АТФазы и кислой фосфатазы. При этом следует отметить, что в некоторых случаях нами было выявлено разнонаправленное изменение активности обоих ферментов. В литературе имеется ряд работ, посвященных исследованию этих гидролаз при различных патологических состояниях [12, 14, 18]. Некоторые авторы, в частности Шибко и Тепел [20], приписывают дефосфорилирующую активность АТФазы неспецифичности лизосомальной фосфатазы. Однако Саито [18] и Огино с соавторами [13] в своих исследованиях не отмечают взаимосвязи между активностью кислой АТФазы и кислой фосфатазы и не исключают возможность существования новой лизосомальной фосфогидролазы — кислой АТФазы.

ЛИТЕРАТУРА

1. Брекфельд Н. Кардиология, **12**, 12, 117—131, 1972.
2. Собель Б. Е. Метаболизм миокарда, «Медицина», М., 1975, 352—372.
3. Табагари С. И. Мат. конфер. молодых медиков Грузии, «Мецниереба», Тбилиси, 1976, 62—64.
4. Трофимова Г. А., Скорак В. И., Стрежнева Г. Ю., Севрук Ю. А., Коровкин Б. Ф. Лаб. дело, **7**, 339—401, 1976.
5. Фролов В. А. Архив патологии, **35**, 10, 22—27, 1973.
6. Brachfeld N., Gemba T. Clin. Res., **13**, 4, 524, 1965.
7. Brachfeld N., Gemba T. J. Clin. Inves., **44**, 6, 1030, 1965.
8. Deduve C. Beaufay H. Biochem. J., **73**, 610—616, 1959.
9. Gemba T. Katakanto Med. J., **22**, 3, 169—184, 1972.
10. Gordis L., Nitowsky H. M. Exp. Cell Res., **38**, 556—569, 1965.
11. Hoffstein S., Weissmann G., Fox A. C. Circulation, **53**, 3, Suppl. 1, 1—36, 1976.
12. Kira J. Jap. Circul. J., **32**, 271—295, 1968.
13. Matsunaga M. Kira J., Saito N., Ogiно K., Takayasu M. Jap. Circul. J., **32**, 137—143, 1968.
14. Ogiно K., Matsunaga M., Saito N., Kira J., Takayasu M. Jap. Circul. J., **31**, 1—8, 1967.
15. Ricciutti M. A. Amer. J. Cardiol., **30**, 5, 492—497, 1972.
16. Ricciutti M. A. Amer. J. Cardiol., **30**, 5, 498—502, 1972.
17. Romeo D., Stagni N., Sottocosa G. L., Pugliarello M. C., Debernard Vittur F. Biochim. Biophys. Acta, **130**, 1, 64—80, 1966.
18. Saito N. Jap. Circul. J., **30**, 1161—1178, 1966.
19. Selye H., Bajuer E., Crasco S., Mendell P. Angiology, **11**, 5, 398—407, 1960.
20. Shibko S., Tappel A. L. Biochim. Biophys. Acta, **73**, 1, 76—86, 1963.
21. Tappel A. L., Shibko S. Lysosomes. Ciba Foundation Symposium, Boston, Little Brown, 1963, 78—113.
22. Taussky H. H., Shorr E. J. Biol. Chem., **202**, 2, 675—685, 1953.

ს. თაბაგარი, ი. გრიგორიანი, ა. ებრალიძე

თბილისის სახელმწიფო სამედიცინო ინსტიტუტი

რ ე ზ ი ე მ ე

შესწავილი იქნა მჟავე ფოსფატაზის, მჟავე რიბონუკლეაზის, ატფ-ს, ადფ-ისა და ამფ-ის მჟავე დეფოსფორილირების აქტივობა გულის კუნთის, ღვიძლისა და თირკმლის ჰომოგენატებში ექსპერიმენტული ინფარქტის დროს. მჟავე ჰიდროლაზების აქტივობის განსაზღვრა წარმოებდა საკონტროლო ჯგუფში (ინტაქტური ცხოველები), მიოკარდის ინფარქტის ექსპერიმენტულად გამოწვევის 24 და 44 საათის შემდეგ.

გამოკვლევის შედეგად გამოვლინდა ინტაქტური ცხოველების გულის კუნთის, ღვიძლისა და თირკმლის ჰომოგენატებში ცალკეული ფერმენტების აქტივობის სხვადასხვანაირი განაწილება. ამასთან ერთად, გულის კუნთში ამ ფერმენტების აქტივობა უფრო დაბალი აღმოჩნდა. მიოკარდის ექსპერიმენტული ინფარქტის დროს აღმოჩენილ იქნა მჟავე ჰიდროლაზების აქტივობის ცვალებადობა არა მარტო გულის კუნთში, არამედ ღვიძლსა და თირკმელშიც. გარდა ამისა, გულის კუნთში აღინიშნებოდა უფრო ნაადრევი და მნიშვნელოვანი მჟავე ატფაზ-ის აქტივობის ცვალებადობა, ვიდრე სხვა ფერმენტებისა — მათ შორის, მჟავე ფოსფატაზისა.

ACID HYDROLASE ACTIVITY OF VARIOUS ORGANS DURING EXPERIMENTAL MYOCARDIAL ISCHEMIA

S. I. TABAGARI, I. A. GRIGORYAN, A. Sh. EBRALIDZE

Medical State Institute, Tbilisi, USSR

S u m m a r y

The activity of acid phosphatase, acid RNAase and acid dephosphorylation of ATP, ADP, AMP has been studied in homogenates of cardiac muscle, hepar and kidneys of albino rats in the experimental infarction of cardiac muscle. The infarction was produced by ligation of the left coronary artery and then confirmed by electrocardiography and micromorphology. Acid hydrolase activity was determined in a control group 24 and 44 h after FMI induction.

A different distribution of enzymatic activity of various hydrolases was observed in the homogenates of cardiac muscle, hepar and kidneys of intact animals. The least activity of acid hydrolases being observed in the myocardium. Comparison of the facts showed a variability of acid hydrolase activity in the experimental groups not only in the myocardium, but also in the hepar and kidneys. Moreover, the myocardium showed earlier and more considerable variation of acid ATPase activity than of other enzymes, among them acid phosphatase.

УДК 581.4:633.872.3

БОТАНИКА

ИЗМЕНЧИВОСТЬ ПЛЮСОК ВОСТОЧНОГО БУКА (*FAGUS ORIENTALIS LIPSKY*) В РАЗЛИЧНЫХ ЧАСТЯХ ЕГО АРЕАЛА

Л. Я. Абашидзе

Институт ботаники АН ГССР, Тбилиси

Поступила в редакцию 5.7.1977

Излагаются результаты изучения изменчивости морфологических признаков плюски восточного бука в различных условиях произрастания в пределах одного лесного массива (на разных высотах над уровнем моря и в разных типах леса), а также в зависимости от специфики региональных популяций в различных частях ареала вида. Исследования велись по разработанной автором методике, учитывающей решение вопросов адаптивной и географической изменчивости вида.

С морфологией плюски у бука связаны диагностически важные признаки. В систематике рода *Fagus* им придается большое значение.

Целью наших исследований было выявление особенностей изменчивости этих признаков у восточного бука (*Fagus orientalis Lipsky*). При этом, для лучшего понимания характера изменчивости и причин, определяющих ее особенности, мы добивались решения ряда частных задач, а именно — выявления изменчивости каждого из признаков: 1. В пределах одного дерева. 2. В пределах микропопуляции достаточно однородных условий произрастания. 3. В пределах лесного массива с разными условиями физико-географической среды. 4. В пределах всей кавказской (то есть основной) части ареала вида.

Сопоставление изменчивости морфологических признаков у плюски, собранной с различных частей кроны отдельных деревьев, позволяет выявить зависимость изменчивости этих признаков от условий развития плюски в рамках одного дерева. Сопоставление изменчивости тех же признаков у микропопуляций одного лесного массива, но развивающихся в разных физико-географических условиях, позволило выявить изменчивость этих признаков в зависимости от тех или иных условий произрастания бука. Сопоставление изменчивости тех же признаков в популяциях, развивающихся в различных частях ареала, но по возможности в корреспондирующих физико-географических условиях (в частности на более или менее одинаковых высотах над уровнем моря), дает возможность судить об определенной изменчивости (или тенденции к изменчивости) некоторых морфологических признаков в географическом плане.

Материал для наших исследований собран в разных популяциях (Лагодехский заповедник, Карабах, Северная Армения, Триалети, Лечхуми, Аджария, Абхазия, Северо-Западный Кавказ, Теберда, Дагестан) ареала восточного бука. Более полные исследования проведены в лесном массиве центральной части ареала — в Лагодехском заповеднике. Материал мы собрали по ступеням высот через каждые



400 м над уровнем моря, а в пределах каждой высотной ступени — экологически отличных друг от друга типах леса. Методика сбора отличалась от общепринятой и разработана нами в соответствии с основными задачами исследования. Плюски собирались не с деревьев, а опавшие. Сбор производился в начале ноября в букняках с полнотами древостоя от 0,6 до 0,8. На каждом участке бралось до 500 плюсок. Собирались они подряд (без субъективного отбора), отбрасывались лишь поврежденные — непригодные для измерений. Нами изучались: длина плюски, длина ее основания, длина и ширина створки и нижних придаточных листочков, длина верхних придаточных листочков и плодоножки, отношение длины створки к длине основания, отношение длины створки к ее ширине и отношение длины плюски к длине плодоножки.

По нашим данным, эндогенная изменчивость генеративных органов бука показывает, что относительные показатели морфологических признаков плюски в разных частях кроны одного дерева варьируют настолько сходно, что практически их можно считать независимыми от положения в кроне. Сравнительно изменчивы длина плюски, длина и ширина створки и длина плодоножки.

Измерения свидетельствуют, что наибольших размеров плюска достигает в лучше освещенной верхней части кроны. Поэтому различия в размерах плюски, зависящие от положения в кроне, заметнее выражены на деревьях, растущих в густом лесу. Длина же плодоножки у плюски, расположенной в верхней части кроны, в среднем короче, чем у плюски, расположенной в нижней части.

— Форма плюски в известной мере характеризуется отношением длины к ширине. На основании полученных нами данных на одном дереве это отношение (весьма незначительно увеличиваясь к вершине) практически почти не зависит от положения в кроне.

В целом наши данные свидетельствуют о том, что морфологические признаки плюски восточного бука в пределах одного дерева варьируют незначительно. Между тем очень большая индивидуальная изменчивость плюски отмечается в пределах популяций. Встречаются деревья, плюска которых существенно отличается от плюски соседних деревьев как показателями размеров, так и по некоторым другим признакам. Примером могут служить данные, полученные нами при измерении морфологических признаков плюски 5 срубленных деревьев в окрестностях Телави и 2 свалившихся в Лагодехском заповеднике (табл. 1). Эти деревья почти одинакового возраста, сходны по высоте и диаметру ствола. В каждом из двух районов они взяты в рамках одной микропопуляции, по соседству друг от друга, и сходны по характеру развития. Результаты измерений указывают на сильную изменчивость размеров плюски. Амплитуда изменчивости характеризуется коэффициентом вариации $C=5,37-40,00\%$.

При сравнении отдельных деревьев по признакам плюски лишь изредка можно встретить два рядом растущих дерева одной популяции, у которых размеры плюски (как средние, так и крайние варианты) более или менее одинаковы (табл. 1).

В отличие от размеров, форма плюски у деревьев одной популяции меняется очень мало.

Различия плюски у растущих по соседству деревьев бука могут быть связаны, с одной стороны, с унаследованными особенностями индивидуальной внутривидовой и внутривидовой изменчивости. С другой стороны, они могут зависеть от возрастных особенностей или жизненных условий, которые в какой-то мере различаются даже у рядом растущих деревьев. Поскольку плюска сравнивалась нами у

почти одновозрастных деревьев, не только растущих рядом, но и имеющих сходную развитость, надо полагать, что наблюдаемая в данном случае изменчивость отражает в основном индивидуальные модификационные особенности популяции, быть может, связанные с ее геотипической гетерогенностью. Нельзя, конечно, игнорировать и какую-то долю влияния индивидуальных особенностей онтогенеза. Более надежные данные о влиянии среды можно получить, сопоставляя изменчивость плюски в микропопуляциях с резко различными условиями произрастания, но в рамках одного небольшого лесного массива.

Таблица 1
Изменчивость морфологических признаков плюсок *Fagus orientalis*
в пределах отдельных деревьев (по 100 шт.)

Место сбора материала	Деревья	Лимиты		М ± σ		
		Длина плюски, см		Длина плодоножки, см		
Окр. Телави	а	1,6—2,8	2,27 ± 0,23	1,7—3,5	2,90 ± 0,59	
	б	2,4—3,9	2,99 ± 0,25	1,9—4,9	3,19 ± 0,60	
	в	1,4—2,7	1,97 ± 0,23	1,5—2,9	2,19 ± 0,23	
	г	2,8—4,6	3,65 ± 0,31	2,0—6,3	3,64 ± 0,89	
Лагодехский заповедник	а	1,8—3,5	2,49 ± 0,31	1,2—4,8	2,54 ± 0,77	
	Длина створки, см		Отношение длины створки к ширине			
	Окр. Телави	а	1,5—2,6	2,04 ± 0,20	1,40—2,50	1,93 ± 0,18
		б	2,0—3,1	2,46 ± 0,21	1,55—2,80	2,28 ± 0,19
в		1,3—2,2	1,72 ± 0,19	1,40—2,45	1,89 ± 0,17	
г		2,3—3,7	2,99 ± 0,24	1,80—3,10	2,49 ± 0,26	
Лагодехский заповедник	а	1,6—2,8	2,0 ± 0,23	1,40—2,80	2,08 ± 0,24	
	Отношение длины створки к длине основания		Длина верхних дополнительных листочков плюски, мм			
	Окр. Телави	а	5,0—10,6	8,87 ± 0,38	—	—
		б	3,2—6,7	4,64 ± 0,37	—	—
в		3,1—8,8	6,88 ± 0,36	—	—	
г		2,3—6,7	4,53 ± 0,38	4,1—7,0	5,40 ± 0,61	
Лагодехский заповедник	а	3,1—7,8	5,82 ± 0,37	3,4—5,5	4,21 ± 0,42	
	Длина нижних дополнительных листочков плюски, мм		Ширина нижних дополнительных листочков плюски, мм			
	Лагодехский заповедник	а	6,0—11,1	7,50 ± 0,72	1,4—4,0	2,14 ± 0,44
		б	3,7—7,1	5,03 ± 0,68	0,6—1,7	1,08 ± 0,20

Существенная разница в размерах плюски обнаруживается в тех районах, где на сравнительно небольшой территории бук произрастает в более или менее резко отличающихся друг от друга условиях. У бука, растущего на относительно более сухих местообитаниях, плюски значительно мельче, чем у деревьев, развивающихся во влажных условиях. В отдельных же случаях наблюдаются значительные отклонения в разные стороны. Изредка на маломощных почвах встречаются деревья бука, имеющие сравнительно более крупную плюску, чем в более влажных условиях и на хорошо развитых почвах.

Вместе с тем и в популяциях бука, развивающихся в сходных условиях, иногда даже по средним для популяции показателям, наблюдаются некоторые расхождения в размерах плюски. Причины не всегда бывают ясными.

Как и большинство других морфологических признаков нашего вида, размеры плюски изменяются в разных климатических условиях высотных поясов его распространения. Это видно уже по данным Е. В. Вульфа [2]. Аналогичная закономерность отмечается В. Мишичем [3] и для балканского бука.

Зависимость морфологических признаков плюски у *Fagus orientalis* от высоты над уровнем моря несколько иная, чем та, которая наблюдается у его листьев. Средние размеры листьев восточного бука по нашим данным [1] с возрастанием высоты над уровнем моря до 1000 м несколько увеличиваются и только выше этого уровня начинают уменьшаться. На больших высотах уменьшение размеров листа оказывается довольно сильным. Средние размеры плюски до 1000 м не увеличиваются и уже с самого начала, по мере возрастания высоты местности, слегка уменьшаются. Только в двух случаях (в Лагодехском заповеднике и на Северо-Западном Кавказе) отмечалось некоторое увеличение средних размеров плюски до высоты около 1000 м. В целом уменьшение длины плюски, длины плодоножки, длины створки и др. по мере возрастания высоты над уровнем моря идет неравномерно и недостаточно отчетливо. Между тем, резкие отклонения их средних величин наблюдаются, как указывалось выше, иногда и в пределах одной популяции на сходных участках и на одинаковом гипсометрическом уровне. Различия в высотах над уровнем моря, несмотря на то, что они сопровождаются большими изменениями продолжительности вегетационного периода, все же мало влияют на изменения средних показателей морфологических признаков плюски восточного бука. Значительная редукция плюски отмечена лишь у верхней границы распространения бука, в субальпийских криволесьях. В этих условиях редко можно встретить деревья, плюска которых по размеру была бы больше средней.

Плюска наиболее мелких размеров характерна для сухих каменистых местообитаний и верхней границы леса. Самая крупная, наоборот, не связана с условиями местообитания, а встречается во всех условиях и очень часто рядом с деревьями, имеющими особенно мелкую плюску.

Изменчивость размера и формы плюски восточного бука в географическом плане оказалась довольно сложной. Как абсолютные, так и относительные числовые показатели отдельных морфологических признаков плюски в пределах Кавказа в значительной степени колеблются. Амплитуда колебания очень большая (коэффициент вариации S — от 4,44% до 55,26%). Но есть случаи сближения их средних величин. Например, длина плюски в Лагодехском заповеднике Северо-Западного Кавказа и в ущелье Бзыби на корреспондирующих высотах (600, 1000 и 1400 м н. у. м.) почти одинакова.

Относительно большая изменчивость плюски внутри популяции между отдельными деревьями и малая — в пределах кроны одного дерева, а также слабая связь ее с экологией и географическим положением указывает на большую наследственную неоднородность (гетерогенность) популяций восточного бука, сказывающуюся в той или иной степени на всем протяжении его ареала.

Размеры и строение придаточных листочков плюски являются одними из основных диагностических признаков при установлении видовых различий восточного и европейского буков. Нашими исследованиями высокая систематическая значимость данных признаков подтверж-

дается, в частности, и тем, что в зависимости от географического положения придаточные листочки плюски в рамках всей кавказской части ареала мало изменяются (табл. 2)*. Относительно более широкие нижние придаточные листочки обнаружены в Лагодехском заповеднике, чуть более длинные — на Северо-Западном Кавказе и в Аджарии. Изменчивость их не проявляет достаточно закономерной зависимости и от условий произрастания. В частности, как уже указывалось выше, высота над уровнем моря мало влияет на изменения их средних показателей.

Таблица 2
Изменчивость придаточных листочков плюски *Fagus orientalis* в различных частях ареала

Высота над уровнем моря, м	Длина нижних придаточных листочков плюски, мм		Ширина нижних придаточных листочков плюски, мм		Длина верхних придаточных листочков плюски, мм	
	M±m	σ	M±m	σ	M±m	σ
Лагодехский заповедник						
600	6,30±0,03	0,27	1,50±0,05	0,48	4,49±0,06	0,60
1000	6,91±0,15	1,49	1,84±0,06	0,61	5,17±0,07	0,75
1400	6,09±0,10	0,99	1,44±0,04	0,44	4,38±0,06	0,61
1800	7,18±0,15	1,52	1,41±0,04	0,43	4,73±0,06	0,57
2200	6,79±0,10	1,04	1,58±0,03	0,33	5,00±0,06	0,63
Северная Армения						
1000	7,34±0,09	0,91	0,84±0,02	0,23	6,11±0,07	0,74
1400	7,38±0,16	1,60	0,98±0,03	0,27	5,62±0,08	0,78
1800	6,05±0,09	0,85	1,12±0,03	0,33	4,88±0,06	0,64
Абхазия						
600	6,84±0,05	1,18	1,52±0,04	0,44	5,40±0,06	0,59
1000	5,96±0,08	0,75	1,36±0,03	0,30	4,78±0,07	0,66
1400	6,05±0,10	0,96	0,90±0,01	0,11	4,45±0,05	0,46
1800	5,66±0,12	1,17	0,90±0,02	0,23	4,10±0,05	0,55
2200	5,83±0,12	1,16	0,89±0,03	0,33	3,97±0,06	0,63

Коэффициент формы плюски отдельных популяций на протяжении всего ареала мало отличается друг от друга. Сравнительно удлиненные формы отмечены в Лагодехском заповеднике и в Абхазии — в нижней части лесного пояса: на Северо-Западном Кавказе, в Лечхуми и в Триалети — в средней; в Армении — в верхней.

При вычислении коэффициента корреляции между длиной плюски и другими показателями ее морфологических признаков было установлено, что с увеличением длины плюски увеличиваются размеры остальных ее признаков. Эта закономерность сохраняется как в пределах отдельных деревьев, так и при сопоставлении популяций. Например, корреляция высокая между длиной створки и шириной $r=0,717\pm 0,021$, между длиной створки и длиной основания плюски $r=0,722\pm 0,026$ и между длиной плюски и шириной нижнего придаточного листочка

* В таблицу включены результаты обработки материалов только части изученных популяций.

$r=0,728\pm 0,047$. Корреляция значительная между длиной плюски и длиной нижнего придаточного листочка $r=0,622\pm 0,056$ и между длиной плюски и длиной верхнего придаточного листочка $r=0,620\pm 0,062$. А корреляция между изменениями длины плюски и длиной плодоножки, хотя и имеется, но она намного ниже средней (коэффициент корреляции составляет всего лишь $0,481\pm 0,034$). Это говорит о том, что в природе изменение длины плюски и длины плодоножки происходит в значительной степени независимо друг от друга.

Сопоставление изменчивости плюски восточного бука с изменчивостью листьев [1] свидетельствует о том, что закономерности, определяющие их варьирование, действуют в том и другом случае различно. Изменчивость диагностически важных признаков плюски, в отличие от изменчивости листьев, в пределах одного дерева мала. Но уже в микропопуляциях она делает значительный скачок в сторону резко возрастающей амплитуды варьирования, что отчасти характерно и для листьев. Зависимость изменчивости плюски от произрастания популяции в различных физико-географических условиях, безусловно, имеет место, но далеко не в такой степени, которая характерна для листьев. К тому же она как бы маскируется широким размахом индивидуальной изменчивости в рамках почти каждой популяции и поэтому становится более заметной лишь по средним показателям для популяции в целом.

Таким образом, судя по нашим данным, есть основания утверждать, что в определенной форме и в определенной степени экологические условия влияют и на изменчивость генеративных органов бука. Но, в то же время, характер изменчивости плюски определяется, и при том в более значительной степени, другими факторами, прежде всего наследственными особенностями, значительная изменчивость признаков в пределах отдельных популяций при сравнительно большой устойчивости тех же признаков у каждого дерева в отдельности, свидетельствует скорее всего о неоднородности (гетерогенности) генетического материала в пределах популяции. При этом морфология плюски, по-видимому, особенно чувствительна в данном отношении и заметнее остальных отражает эту гетерогенность.

Поскольку сходная картина изменчивости плюски повторяется в различных частях ареала восточного бука и на различных высотах над уровнем моря, надо полагать, что соответствующий характер гетерогенности популяций восточного бука сформировался достаточно давно и к настоящему времени уже более или менее уравновешенно отражен по всему ареалу восточного бука или, по крайней мере, по основной его части. Если это так, то данную особенность изменчивости можно рассматривать как один из показателей своеобразной консервативной формы внутривидовой гетерогенности.

ЛИТЕРАТУРА

1. А б а ш и д з е Л. Я. Бот. ж., 59, 9, 1287—1294, 1974.
2. В у л ь ф Е. В. Бот. ж., 20, 5, 494—544, 1935.
3. М и š и ć В. Varijabilitet i ekologija bukve u Jugoslaviji, Beograd, 181, 1957.

აღმოსავლეთის წიფლის (*FAGUS ORIENTALIS LIPSKY*)
ნაყოფის ბუდის ცვალებადობა მისი არეალის
სხვადასხვა ნაწილში



ლ. აბაშიძე

საქართველოს სსრ მეცნიერებათა აკადემიის ბოტანიკის ინსტიტუტი, თბილისი

რ ე ზ ი უ მ ე

შესწავლილია აღმოსავლეთის წიფლის (*Fagus orientalis Lipsky*) ნაყოფის ბუდის მორფოლოგიური ნიშნების (ბუდის სიგრძე, საგდულის სიგრძე და სიგანე, ბუდის ფუძის სიგრძე, ყუნწის სიგრძე, ბუდის ქვედა გამონაზარდის სიგრძე და სიგანე, ბუდის ზედა გამონაზარდის სიგრძე) ცვალებადობა მისი არეალის სხვადასხვა ნაწილში (ჩრდილო კავკასია, აფხაზეთი, აჭარა, დას. თრიალეთი, ჩრდ. სომხეთი). არეალის ცენტრალურ ნაწილში (ლაგოდეხის ნაკრძალში), სხვადასხვა ეკოლოგიურ პირობებში, ბუდის მორფოლოგიური ნიშნების პოპულაციურ ცვალებადობასთან ერთად შესწავლილ იქნა შიდაპოპულაციური ცვალებადობაც. გამოვლენილია ცვალებადობის კანონზომიერებები ვარჯის სხვადასხვა ნაწილში.

ბუდის მორფოლოგიური ნიშნების ცვალებადობის ხასიათი ძირითადად განისაზღვრება ინდივიდების გენოტიპური თავისებურებით, ამავე დროს ამ ნიშნების ცვალებადობაზე განსაზღვრული ხარისხით მოქმედებენ ეკოლოგიური პირობები. მორფოლოგიური ნიშნების მნიშვნელოვანი შიდაპოპულაციური ცვალებადობა მოწმობს გენეტიკური მასალის ჰეტეროგენულობას პოპულაციის ფარგლებში.

CHANGES OF EASTERN BEECH (*FAGUS ORIENTALIS LIPSKY*)
CUPULA IN DIFFERENT PARTS OF ITS HABITAT

L. I. ABASHIDZE

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

S u m m a r y

Morphological changes of the Eastern beech cupula (cupula length, the length and width of its cover, the base length of cupula, the length of pedicel, the length and width of the lower adventitious leaf of cupula, the length of the upper part of cupula) were studied in the different parts of its habitat (Northern Caucasus, Abkhazia, Adjara, Western Trialeti, Northern Armenia). In the central part of its habitat (Lagodekhi forest reserve) in different ecological conditions apart from the morphological changes of cupula, the intrapopulation variations were also studied. Consistency of the changes was revealed in the different parts of the tree.

The character of morphological changes of cupula is largely defined by the individual genotypical peculiarities. Yet the ecological conditions affect these changes to a certain extent. The basic intrapopulation morphological changes indicate the heterogeneity of the genetic material within the populations.

УДК 591.9

ПАЛЕОБИОЛОГИЯ

ИСТОРИЯ РАЗВИТИЯ ОРНИТОФАУНЫ ГРУЗИИ И ПРИЛЕГАЮЩИХ МЕСТНОСТЕЙ (ТРЕТИЧНЫЙ ПЕРИОД)

Н. И. Бурчак-Абрамович

Институт палеобиологии АН ГССР, Тбилиси

Поступила в редакцию 7.5.1976

Сводка по третичным ископаемым птицам Грузии составлена по литературным источникам и конкретным остеологическим материалам. В составе третичной орнитофауны Грузии до сих пор констатировано 27 видов птиц, 10 из них полностью вымерших. Остальные и сейчас обитают на территории Грузии или сохранились где-либо вне ее пределов.

Наиболее древние находки ископаемых птиц Грузии датируются верхним олигоценом — нижним миоценом (окр. Сухуми, Орджоникидзе — на р. Черной), но они еще не изучены. Из позднего сармата известны ископаемые гуси (*Anser udabnensis*, *Anser eldaricus*), руставиорнис из отряда куриных, ископаемый страус (Эльдари), из нижнего плиоцена — Кисатиби, очень мелкая крачка, ископаемый гусь и утка. Больше сведений у нас о видовом составе орнитофауны верхнего плиоцена (по прежней хронологической шкале). В акчагыле существовал весьма крупный ископаемый двупалый страус (*Struthio transcaucasicus*), в нижнем апшероне — апшеронская утка (*Anas apscheronica*), серая куропатка, ястреб-тетеревятник, малая поганка, ворона, галка. В верхнем апшероне (возможно, в начале плейстоцена) — перепел, кеклик, сизый, голубь, голубь-клинтух, степная пустельга, обыкновенная пустельга. Костные остатки ископаемых птиц, как правило, встречаются в природе значительно реже, чем кости млекопитающих. Это объясняется в первую очередь нежностью птичьих костей, полых внутри, в связи с чем они легко разрушаются, не переходя в ископаемое состояние. В ископаемой фауне СССР исключение составляет «бинагадинское» месторождение среднеплейстоценовых битумов возле г. Баку с богатейшим скоплением костей млекопитающих и птиц, а также насекомых (жуков), растений и др. Здесь особенно много костей птиц. Количество их необычайно огромно и не поддается никакому учету. Это одно из богатейших в мире местонахождений с остатками птиц. В Грузии ископаемые птицы чаще попадают в виде находок отдельных костей и их фрагментов в культурных палеолитических и мезолитических слоях карстовых пещер. Весьма интересно месторождение пресноводных ниже-среднеплиоценовых диатомитов в окр. с. Кисатиби возле г. Ахалцихе с находками целых скелетов рыб, лягушек, птиц и костей млекопитающих. Гиппарионовая фауна Грузии (Удабно, Рустави, Яглуджа и др.) весьма бедна остатками птиц (страус, гусь, руставиорнис). В континентальных отложениях акчагыла и апшерона в Восточной Грузии и Западном Азербайджане в большом количестве попадаетея скорлупа яиц ископаемых двупалых страусов, по-видимому, *Struthio transcaucasicus* Bur. et Vekua. Находки птиц голоценового возраста в

Грузии относятся, главным образом, к археологическим слоям (неолит, энеолит, эпоха бронзы, железа, античное время, средневековье), но их относительно мало, а в более поздних слоях преобладают преимущественно кости домашних птиц — пещера Сагварджиле, Самтавро, Вани, в Западном Азербайджане — Мингечаур и др. Первая работа по ископаемым птицам Грузии датируется 1931 годом [16]. В ней описывается скелетик верхнетретичной мелкой крачки из диатомитов Кисатиби. Несколькo раньше (в 1927 г.) о находке этого скелета упоминает А. П. Шишкина-Богачева [19]. До начала 1976 г. опубликовано 12 работ, посвященных ископаемым птицам Грузии, и около 20 работ с упоминаниями о них. Всего на рассматриваемой территории отмечено 83 вида ископаемых и полускопаемых птиц, из них 10 форм полностью вымерших. По геологическому возрасту ископаемые птицы Грузии распределяются на верхнесарматских — 5 видов, нижнеплиоценовых — 3, верхнеплиоценовых (акчагыл, ашшерон) — 19, плейстоценовых — 58. Среди последних: нижнеплейстоценовых — 1 вид, времени нижнего палеолита (ашель) — 26, мустье — 15, верхнего палеолита — 12, мезолита — 18. Всего 41 вид голоценовых. Среди них эпохе энеолита принадлежит 17 видов, бронзы — 5, железа — 10, античному времени — 8, средневековью — 12. В систематическом отношении бескилевый принадлежит 2—3 вида, отряду поганок — 2, веслоногим — 1 вид, голенастых не обнаружено, пластинчатоклювых — 22 вида, дневных хищных — 16, куриных — 10, журавлеобразных — 5, куликов — 1, чаек — 2, голубей — 3, сов — 4, дятлов — 1, воробьиных — 14 [22]. Изучение ископаемых птиц Грузии пока находится в начальной стадии; впереди еще много интересных находок и новинок. Особенно перспективно изучение орнитофауны майкопских сланцев, птиц гиппарионовой фауны, нижнеплиоценовых диатомитов у с. Кисатиби, пещерных палеолитических и мезолитических стоянок. Наиболее древние находки ископаемых птиц в Грузии и на Кавказе датируются олигоценом — нижним миоценом. Так В. П. Смирнов [17] в 1936 г. пишет о находке отпечатка пера птицы в глинистых сланцах «рыбного кладбища» майкопского горизонта, датируемого им нижним олигоценом и найденного вместе с отпечатками рыб, крабов, крылаток сосны. Местонахождение — речка Черная в 7 км к юго-западу от г. Орджоникидзе. Кости птиц изредка попадают вместе с рыбами в майкопских глинистых сланцах (горизонт Рики) в низовьях р. Гумисты возле с. Эшера Сухумского района. Оттуда и кости передней конечности какой-то птицы, изучение которой нам предстоит.

Верхний сармат. В Грузии немногочисленные остатки птиц известны в составе гиппарионовой фауны (Удабно, Натлис-Мцемели, Яг-луджа, Эльдари), относимой большинством геологов к верхнему сармату. Однако существует мнение о более молодом (меотическом) возрасте этих местонахождений. В Удабно об этом говорит, например присутствие высокоорганизованного примата — удабнопитека. Эльдарское местонахождение лежит на границе Азербайджана и Грузии (большая часть находится на территории Азербайджана). О находке в составе эльдарской фауны страуса и черепа обезьяны были давние (непроверенные) указания В. В. Богачева, по которым эти виды были найдены в 1918 г. во время палеонтологических раскопок Геологического музея Академии наук [2]. Однако материалы раскопок погибли на железнодорожной станции Герань, так и не достигнув Ленинграда. Указание остается недоказанным. В 1955 г. во время палеонтологических раскопок бакинского естественно-исторического музея АН Азерб. ССР под руководством Д. В. Гаджиева был найден единственный фрагмент скорлупы яйца ископаемого двупалого страуса (*Struthio sp.*),

относительно некрупных размеров (если судить по толщине скорлупы). Толщина скорлупы — 2 мм, т. е. соответствует толщине скорлупы современного африканского страуса. Из ископаемых страусов она близка к *Struthio mongolicus* (толщина скорлупы 1,85—1,95 мм) и забайкальскому *Struthio* sp. (толщина скорлупы 2—2,5 мм). Скорлупа эльдарского страуса описана только макроскопически [11, 12, 13]. Эльдарский гусь (*Anser eldaricus* sp. n.) описан Н. И. Бурчак-Абрамовичем и Д. В. Гаджиевым (статья публикуется в Кракове). Остатки гуся состоят из проксимального конца с головкой *hum. dex. ad.*, фрагмента коракоида и срединной части *ulnae dex.*, 1 фрагмента *radii dex.* (из трех частей). Кости найдены вместе и, по-видимому, принадлежат части правого крыла одной особи. *A. eldaricus* крупнее современного *Anser anser* L. *Anser udabnensis* Burchak-Abg. из верхнесарматской (меотической?) гиппарионовой фауны Натлис-Мцемели (в 5 км к западу от местонахождения Удабно). Найдена единственная *ulna dex.* (голотип). Сохранилась и описана только проксимальная часть кости. Размеры несколько крупнее *Anser anser* L.—*Rustaviornis georgicus* Bur. et Meladze. Верхнесарматская гиппарионовая фауна горы Яглуджа на правом берегу р. Куры против г. Рустави, ущелье Товат-Дере. Дистальная часть *tibiotarsi sin. ad.* (голотип). Совершенно свежий вид поверхности перелома кости говорит о том, что кость в породе была целой. Описывается новый ископаемый род из отряда куриных, стоящий ближе всего к родам *Phasianus* и *Lyrurus*, особенно к первому роду. Авторы склоняются к мнению, что род *Rustaviornis*, входящий в подсемейство *Phasianinae* мог дать начало роду *Lyrurus*, известному пока только из плейстоцена [21, 18].

Нижний плиоцен. Месторождение пресноводных диатомитов у с. Кисатиби возле г. Ахалцихе. Здесь известна богатая фауна — рыбы, лягушки, птицы, кости млекопитающих, растительные остатки. Отсюда в 1931 г. А. Рябининым [16] описан новый вид мелкой ископаемой крачки — *Sterna miln-edwardsi*. По данным А. Рябинина у скелета сильно разрушены череп (можно различить только верхнюю и нижнюю челюсти), таз, позвоночник и ребра. От задней конечности сохранился дистальный конец бедра, большеберцовая кость и плюсна. В лучшем состоянии кости передней конечности. Кисатибская крачка принадлежит к самым мелким представителям этого рода. Длина ее крыла по подсчетам Рябинина не более 100—110 мм, а длина крыла у современной мелкой крачки — *Sterna minuta* до 180 мм, черной крачки — 220 мм. В статье даны измерения некоторых костей скелета передней и задней конечностей. Морфологическое описание костей почти отсутствует и в связи с этим скелет заслуживает более обстоятельного изучения. О принадлежности данного скелета к крачкам еще в 1927 г. писала А. П. Шишкина-Богачева: «по соотношению костей плеча, предплечья и фаланг напоминает крачек (*Sterna*)» [18]. В этом же местонахождении диатомитов несколько лет тому назад была найдена часть, а возможно и весь скелет, гуся средних размеров с отпечатками на плите диатомита маховых и кроющих перьев крыла, часть скелета мелкой утки, также с отпечатками оперения. Материалы хранятся в г. Тбилиси, в Институте палеобиологии АН Груз. ССР, и в настоящее время изучаются нами (Г. Мчедлидзе и Н. Бурчак-Абрамович). Судя по предварительному просмотру, кисатибский гусь принадлежит новому ископаемому виду, который вполне уместно будет назвать *Anser Kisatibensis* sp. nova. Находки скелетов ископаемых птиц, сопровождаемых отпечатками перьев, принадлежат к величайшим редкостям и уникальны по своему значению. Нахождение в диатомитах Кисатиби ко-



етей гиппариона дает Л. К. Габуния основание датировать миты Кисатиби нижним плиоценом.

Верхний плиоцен. В конце 1951 года во время рекогносцировочной палеонтологической поездки по Западному Азербайджану, организованной Естественно-историческим музеем АН Аз.ССР, нами было найдено очень большое количество обломков скорлуп яиц ископаемых двупалых страусов [1, 2, 3, 4, 6, 7]. Первоначально скорлупа попадалась нам в вымытом состоянии на поверхности склонов южного окончания хребта Палан-Тюкан, затем была найдена и в коренном залегании в рыхлых серых песчаниках ачкагыльского возраста. Вместе с скорлупой встречаются кости млекопитающих, щитки черепах. Целых яиц страуса не обнаружено, но они могут быть. По-видимому, место захоронения скорлупы яиц в песчаниках находилось где-то поблизости от мест обитания страусов, где они могли откладывать яйца в период размножения. Попадается скорлупа яиц с сглаженными краями поверхностей перелома, что говорит о далекой транспортировке ее с места на место до момента отложения в породе; не менее часто встречается скорлупа яиц с острыми, но не свежими (древними) краями переломов. Такая скорлупа могла получиться из разбитого яйца, первоначально лежащего где-то поблизости от места захоронения этой скорлупы. Может быть это были яйца, оставшиеся в виде обломков после выплывания птенца страуса. Иногда к поверхности перелома прицементированы небольшие участки песчаника, из которого она была впоследствии вымыта. Толщина скорлупы яиц страусов с хребта Палан-Тюкан в среднем 2,9—3 мм (только в двух случаях оказалась меньше — 2,6 и 2,7 мм). Таким образом, палантюканский страус принадлежит к группе весьма крупных ископаемых страусов. Кости страусов пока в палантюканском местонахождении не найдены. Сопутствующая фауна континентальных толщ с скорлупой яиц страусов представлена бобротрогонтерием, хищниками, антилопами, оленями, примитивными быками, гиппарионом, черепахами и др. Во множестве попадаются капролиты разнообразной формы. Комплекс палантюканской фауны свидетельствует о ландшафте саванны с водными бассейнами. Среди саванны росли огромные деревья (стволы их встречаются в толще песчаника). Это могли быть роши или сплошные заросли вдоль берега озера или реки. В 1962 году скорлупа яиц страусов, залегающая в конгломератах и глинах ачкагыльского и нижнеапшеронского возрастов и аналогичная палантюканскому, была найдена в Боздагах по южному берегу Мингечаурского моря. Это значительно расширило область распространения ископаемых страусов в Западном Азербайджане. Еще позже аналогичная скорлупа встречена в ачкагыле Восточной Грузии (сборы А. Векуа, О. Бендукидзе, Г. Авакова, Н. Бурчак-Абрамовича) — Вашлованский заповедник и другие пункты. Наконец, в 1967 году возле с. Магаро Сигнахского района Восточной Грузии у подножия горы Квабеби в отложениях среднего ачкагыла было открыто богатое местонахождение ископаемых позвоночных. Раскопки, проводимые на протяжении ряда лет А. К. Векуа, дали богатейший материал. В работах А. К. Векуа [9, 10] в Квабеби описаны 20 видов млекопитающих, сухопутная черепаха, страус. От страуса сохранился неполный таз, свидетельствующий о весьма крупных размерах птицы. По тазу (голотип) Н. И. Бурчак-Абрамовичем и А. К. Векуа был описан новый вид ископаемого двупалого страуса — *Struthio transcaucasicus* Bur. et Vekua [21]. По ряду промеров таз оказался одним из наиболее крупных тазов ископаемых страусов вообще известных до сих пор. В литературе известно пять находок тазов ископаемых двупалых стра-

усов — юг Украины, остров Самос, Китай, Монголия. По некоторым другим промерам таз страуса из Квабеби уступает например тазу из о. Самоса. Территориально к ареалу квабебийского страуса ближе всего лежит находка страуса (*Struthio* sp.) возле г. Мараги в Северном Иране, но страус из Мараги значительно более древнего возраста (нижний плиоцен) и поэтому не может быть тождественным с квабебийским страусом. С другой стороны, многочисленные находки скорлупы яиц крупного ископаемого страуса — *Struthio* sp. ачкагыльского и нижеапшеронского возраста в Восточной Грузии и Западном Азербайджане с наибольшей долей вероятности принадлежат одному и тому же виду, а именно виду *Struthio transcaucasicus*. Однако, чтобы решить данный вопрос систематики закавказских ископаемых страусов, необходимо провести детальное микроскопическое изучение скорлупы яиц этих страусов со всего ареала их обитания в Восточной Грузии и Западном Азербайджане и при этом строго точно по отдельным геологическим горизонтам. Микроскопическое строение скорлупы яиц страусов рода *Struthio* обладает для каждого отдельного вида двупалых страусов своими характерными особенностями, неповторяющимися у других видов страусов. Поэтому изучение под микроскопом скорлупы яиц ископаемых страусов рода *Struthio* может иметь определенное диагностическое значение и при этом большее, чем различия в строении костей скелета, которые у двупалых страусов однотипны и весьма единообразны. Отсюда вытекает и стратиграфическое значение скорлупы яиц ископаемых двупалых страусов как «руководящих окаменелостей» для отдельных горизонтов верхнего плиоцена и раннего голоцена. Местонахождение «Гузгун-Тапа» на левобережье реки Куры, севернее селения Эникенд Самухского района западного Азербайджана (возвышенная местность среди степи Джейран-чёл): здесь в зеленоватых пресноводных суглинках нижеапшеронского возраста заключена довольно разнообразная фауна позвоночных — млекопитающих и птиц. Среди первых — южный слон, примитивная лошадь, антилопы, примитивный бык, бобр-трогонтерий, мелкие грызуны, хищники, черепахи и др. Нами длительное время, из года в год собираются кости птиц, часть их уже определена, часть еще требует уточнения и сравнения. Здесь в 1958 году описан новый вид ископаемой утки — *Anas apscheronica*, по особенностям строения костей близкой к современной связи (*Anas penelope* L.). Голотип — верхняя часть правого коракоида (*corac. dex. ad.*). До сих пор определены: белоглазый нырок (*Aythya nyroca* Güld.), красноголовый нырок (*Aythya ferina* L., пеганка (*Tadorna* sp.), серая утка (*Anas strepera* L.), широконоска (*Anas clypeata* L.), апшеронская утка (*Anas apscheronica* Bur.), серая куропатка (*Perdix perdix* L.), ястреб-тетеревятник (*Accipiter gentilis* L.), малая поганка *Podiceps ruficollis* Pall., ворона (*Corvus* sp.), возможно новая ископаемая форма, галка (?) — *Corvus (monedula?)*. Изучение птиц из Гузгун-Тапа нами продолжается по мере поступления новых материалов. Здесь не представляют редкости находки скорлупы яиц птиц средних размеров (возможно уток?). Возвышенность Дуз-Даг к юго-западу от г. Мингечаура сложена известняками, глинами и песками апшеронского возраста. В одной из мелких пещерок, развитых в известняке, в июле 1973 г. Н. А. Алекперовой была собрана небольшая коллекция костей птиц и мелких грызунов. Геологический возраст находки пока не совсем ясен. Это может быть апшерон или ранний плейстоцен. Было собрано свыше ста отдельных костей и их фрагментов. Часть костей, несомненно, принадлежит одной особи, например перепелке. Нами совместно с Н. А. Алекперовой часть костного материала по



птицам уже определена, остальная изучается. В предварительный список входят: перепел (*Coturnix coturnix*), кеклик (*Alectoris kakehic Falc.*), степной голубь (*Columba livia L.*), голубь-клинтух (*Columba oenas*), степная пустельга (*Cerchneis naumanni Fl.*), обыкновенная пустельга (*Cerchneis tinnunculus L.*). Определение костей пустельги нами основывалось, главным образом, на размерах костей, больших у обыкновенной пустельги и меньших у степной, поэтому в определении могут быть неточности. Гора Дуздаг с ее пещерками заслуживает дальнейшего изучения и поисков ископаемых костей.

Следует добавить, что указание на то, что в гиппарионовой фауне Удабно нашли кости какой-то мелкой птички, не подтвердилось, так как часть скелета мелкой воробьиной птички, найденной нами в щели, в пестроцветной костеносной глине, после изучения оказалась принадлежащей не ископаемой, а современной птичке, случайно попавшей в шель вместе с косточками современных грызунов.

ЛИТЕРАТУРА

1. Бурчак-Абрамович Н. И. Изв. АН Аз. ССР, 11, 39—47, 1952.
2. Бурчак-Абрамович Н. И. Труды Естеств.-историч. музея им. Г. Зардаби АН Аз. ССР. Баку, VI, 1953, 1—206.
3. Бурчак-Абрамович Н. И. Труды Естеств.-историч. музея им. Г. Зардаби, Баку, VIII, 1954, 14—49.
4. Бурчак-Абрамович Н. И. ДАН АЗ. ССР, 13, 655—659, 1957.
5. Бурчак-Абрамович Н. И. Зап. Аз. университета. Биол. сер., 1, 81—88, 1958.
6. Бурчак-Абрамович Н. И. Новости орнитологии. Мат. IV Всесоюзной орнитологической конференции (1—7 сентября 1965), «Наука», Алма-Ата, 1965, 50—52.
7. Бурчак-Абрамович Н. И. Сообщения АН ГССР, IV, 3, 651—656, 1966.
8. Бурчак-Абрамович Н. И. В сб.: Животный мир Азербайджана, Институт зоологии АН АЗ. ССР, Баку, 1951, 7—33.
9. Векуа А. К. Квабеская фауна ачкагыльских позвоночных. «Наука», М., 1972.
10. Векуа А. К. Квабеская фауна ачкагыльских позвоночных, Автореф. докт. дисс., «Мецниереба», Тбилиси, 1969.
11. Гаджиев Д. В. ДАН АЗ. ССР, XIV, 9, 55,—66, 1958.
12. Гаджиев Д. В. Изв. АН АЗ. ССР, Сер. геол.-мин. наук, 4, 697—700, 1959.
13. Гаджиев Д. В. Эльдарская верхнетретичная гиппарионовая фауна, Автореф. докт. дисс., Тбилиси, 1961.
14. Иванов А. И., Штегман Б. К. Краткий определитель птиц, «Наука», М., 1964.
15. Путеводитель экскурсий (Молдавия, Грузия, Азербайджан). Международный коллоквиум по проблеме границы между неогеном и четвертичной системой, М., 1972.
16. Рябинин А. Н. Зап. Рос. минерал. о-ва, II сер., 60, II, Л., 273—279, 1931.
17. Смирнов В. П. Труды Узб. университета, Самарканд, 1936, 43—130.
18. Ханмамедов А. И. Изв. АН Аз. ССР, Сер. биол. наук, 1, 129—132, 1974.
19. Шишкина-Богачева А. П. Изв. Аз. университета, 6, 1927.
20. Burčak-Abrahamovič N. I. Acta zoologica Cracoviensia, XVI, I, Kraków, 1—26, 1971.
21. Burčak-Abrahamovič. Acta zoologica Cracoviensia, XVII, 16, Kraków, 373—388, 1972.
22. Burčak-Abrahamovič Nikolaj. Quartärpalaeontologie, I, Vejmar, 87—105, 1975.

6. ბურჩაკ-აბრამოვიჩი

საქართველოს სსრ მეცნიერებათა აკადემიის პალეობიოლოგიის ინსტიტუტი, თბილისი

რ ე ზ ი უ მ ე

საქართველოსა და მის მომიჯნავე ზოლში დღეისათვის დადგენილია მესამეულ ფრინველთა 27-მდე სახეობა, ამათგან 10 მთლიანად ამომწყდარი სახეობაა, ზედასარმატულია — 5, ქვედამიოცენური — 3, ზედაპლიოცენური (აქჩაგილი, აფშერონი) — 19. საქართველოს ტერიტორიაზე დადგენილი ოლიგოცენური (მაიკოპი) ფრინველი შესწავლის სტადიაშია.

საქართველოს მესამეული პერიოდის ფრინველთა სია: +*Struthio* sp., +*Struthio transcaucasicus* Bur. et Vekua, +*Sternamiln-edwardsi* Riab., *Podiceps ruficollis* Pall., *Columba livia* L., *Columba oenas* L., *Accipiter gentilis* L., *Cerchneis tinnunculus* L., *Cerchneis naumanni* Fl., +*Anser eldaricus* Bur. et Gadz., +*Anser udabnensis* Bur., +*Anser* sp. (*Kisatibi*), +*Anas* sp. (*Kisatibi*), +*Anas apscheronica* Bur., *Aythya nyroca* Guld., *Aythya ferina* L., *Tadorna* sp., *Anas strepera* L., *Anas clypeata* L., +*Rustaviornis georgicus* Bur. et Meladze, *Perdix perdix* L., *Coturnix coturnix* L., *Alectoris kakelik* Falc., +*Corvus* sp., *Corvus* (*monedula*) sp.

HISTORY OF THE DEVELOPMENT OF TERTIARY BIRDS IN GEORGIA
AND IN ADJACENT COUNTRIES

N. I. BURCHAK-ABRAMOVICH

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

S u m m a r y

In tertiary Ornithofauna of Georgia 27 species of birds are known, of which 10 are completely extinct, marked by + in the list: Upper Sarmatian stage-5 species, Lower Pliocen—3, Upper Pliocen-(Akchagyl, Apsheron)—19 species.

List of species of tertiary birds in Georgia and adjacent countries:

+ *Struthio* sp., + *Struthio transcaucasicus* Bur, et Vekua, + *Sterna miln—edwardssi* Riab., *Podiceps ruficollis* Pall., *Columba livia* L., *Columba oenas* L., *Accipiter gentilis* L., *Cerchneis tinnunculus* L., *Cerchneis naumanni* Fleish.,

+ *Anser eldaricus* Bur. et Gadz., + *Anser udabnensis* Bur., + *Anser* sp. (*Kisatibi*), + *Anas* sp. (*Kisatibi*), + *Anas apscheronica* Bur., *Anas strepera* L., *Anas clypeata* L., *Aythya nyroca* Guld., *Aythya ferina* L., *Tadorna* sp., + *Rustaviornis georgicus* Bur. et Meladze, *Perdix perdix* L., *Alectoris kakelik* Falc., *Coturnix coturnix* L., + *Corvus* sp., *Corvus* sp. (*monedula*).

УДК 57.6.8.613.46

МИКРОБИОЛОГИЯ

БИОЛОГИЧЕСКИЕ СВОЙСТВА АКТИНОМИЦЕТА — ПРОДУЦЕНТА ПРОТЕОЛИТИЧЕСКИХ ФЕРМЕНТОВ

Д. Т. Патарая, Ц. С. Турманидзе, Д. А. Долидзе

Институт ботаники АН ГССР, Тбилиси,

Институт биохимии растений АН ГССР, Тбилиси

Поступила в редакцию 5.5.1977

При изыскании актиномицетов — продуцентов протеолитических ферментов, нами была выявлена культура розовой группы — штамм 110 как наилучший продуцент данных ферментов [6]. Штамм выделен в 1972 году из почв Арагвского ущелья. В статье изучены морфолого-культуральные, биохимические и антагонистические свойства упомянутой культуры. На основании результатов исследования и литературных данных мы считаем, что штамм 110, который является представителем розовой группы, близок к виду *Actinomyces fradiae*.

Актиномицеты, относимые к группе *Fradiae*, характеризуются розово-серой или розово-кремовой окраской воздушного мицелия, колонии — желтые, пигмент не проникает в среду. Лучистые грибки, образующие характерный розовый воздушный мицелий, впервые были выделены Ваксманом и Куртис в 1915 году и названы как *Actinomyces fradiae* [7]. В 1948 г. Ваксман и Лешевалье [9] изолировали из почвы штамм 3535, идентичный *Act. fradiae*. Из этой культуры был выделен антибиотик основного характера — неомицин, состоящий, как выяснилось позже, из смеси трех неомицинов А, В, С. Из *Act. fradiae* 3535 был выделен также антибиотик — фрадицин. Позже под тем же названием *Act. fradiae* было выделено много других культур, причем среди них такие, которые отличаются от первоначально описанного штамма.

Ваксман [8] изучил 12 штаммов *Act. fradiae*, полученных из разных коллекций, и установил, что они весьма различны и не могут быть объединены в один вид. Он подразделил их на подгруппы, которые могут рассматриваться как отдельные виды. Кучаева с соавторами [5] изучила биологические особенности 23 штаммов актиномицетов, описанных в литературе под одним и тем же видовым названием *Act. fradiae* и полученных из отечественных и зарубежных лабораторий. Было установлено, что все изученные культуры различны по своим показателям. Большинство исследованных штаммов представляют собой типичный вид *Act. fradiae*, впервые описанный в 1916 г. Ваксманом и Куртис [7]. Остальные представляют либо новые виды, либо его разновидности. Наиболее полная и современная система классификации актиномицетов принадлежит Красильникову. Разработанные им правила классификации всесторонне охватывают различные признаки культур актиномицетов. Красильников считает, что только совокупность морфологических культуральных, физиолого-биохимических, антагонистических и других свойств характеризует вид [1, 2, 3, 4]. В нашей работе мы придерживаемся системы классификации Красильникова.

Для сравнительной характеристики изучаемую культуру — штамм 110, сопоставляли с высокоактивной культурой *Act. fradiae* 119, имеющейся в лаборатории ферментных препаратов Института биохимии им. А. Н. Баха АН СССР. Изучение строения воздушного мицелия штамма 110 показало, что как и на СР I с глюкозой, СР I с крахмалом, СР II, СР III, крахмало-амниачном, картофельном и голодном агаре, культура имеет длинные неспиральные спораносцы с крючкообразным завитком на концах (рис. 1). Форма спор у штаммов изуча-

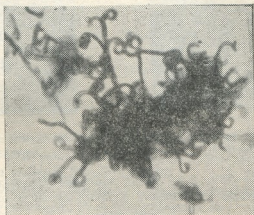


Рис. 1. Форма спораносцев

лась в электронном микроскопе при увеличении 12000. Препараты для этой цели готовились из 15 суточных культур, выросших на среде СР I с глюкозой. Споры в основном овальные, продолговатые, с гладкой оболочкой (рис. 9). Для изучения культуральных свойств применялся ряд синтетических, а также сложных органических сред. Культивирова-

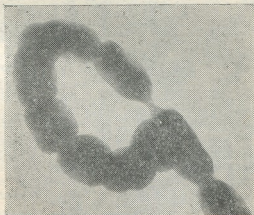


Рис. 2. Споры

ние производилось при 28°C. Наблюдения за ростом, интенсивностью окраски воздушного мицелия, колонии и среды проводили на 5, 10, 15 и 30-е сутки роста.

Рост на средах. СРІ с глюкозой. Рост очень хороший. Воздушный мицелий розовый, с белым оттенком, колонии бесцветные, среда не окрашена, у *Act. fradiae* 119 колонии лимонно-желтого цвета.



Рис. 3. Форма колонии на среде с глюкозой

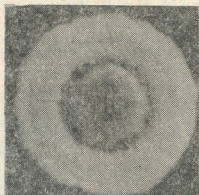


Рис. 4. Форма колонии на картофельном агаре

СРІ с крахмалом. Рост очень хороший. Воздушный мицелий пушистый, розового цвета. Колонии розовые, среда не окрашена.

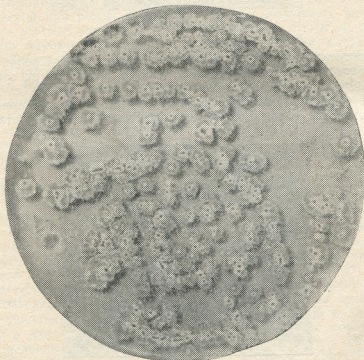


Рис. 5. Форма колонии в популяциях. Среда СРІ с глюкозой

СРІІ. Рост очень хороший. Воздушный мицелий — белый. Колония светло-коричневая, среда бесцветная.

СПИ. Рост средний, штамм 110 не образует воздушного мицелия, колония и среда бесцветные, *Act. fradiae* 119 имеет белый воздушный мицелий.

Крахмало-амниачный агар. Рост средний. Воздушный мицелий беловато-розовый. Колонии и среда не окрашены.

Картофельный агар. Рост очень хороший. Воздушный мицелий пушистый, бархатистый, розовый, колония серая, среда бесцветная.

МПА — рост средний, колонии голые без воздушного мицелия. Цвет колонии и среды бурый.

Для изучения антагонистических свойств был взят большой набор тест-организмов, включающий представителей различных систематических групп микроорганизмов.

1. Грамположительные бактерии: *Bacillus subtilis*, *Sarcina luteae*, *Staphylococcus aureus* 209.

2. Грамотрицательные бактерии: *Bacterium coli*, *Pseudomonas tumefaciens*, *Pseudomonas radiobacter*.

3. Микобактерии: *Mycobacterium rubrum*, *Mycob. phlei*, *Mycob. citreum*, *Mycob. luteum*.

4. Клубеньковые: *Rhizobium trifolii*, *Rh. phaseolus*, *Rh. radiobacter*.

5. Дрожжи: *Saccharomyces cerevisiae*, *Sacch. octus*, *Candida albica*, *Cand. Kefr*, *Hansenula anomala*, *Torulopsis lactis*.

6. Грибы: *Fusarium solani*, *Botrytis alli*, *Penicillium glaucum*, *Clauspodium herbarum*, *Aspergillus niger*, *Penicillium chrysogenum*.

7. Актиномицеты: *Actinomyces lavendulae*, *Act. coelicolor*, *Act. fradiae*, *Act. globisporus*, *Act. griseus*, *Act. aureoverticillatus*, *Act. levoris*.

Культуры актиномицета *Act. fradiae* 119 и штамм 110 выращивали на мучной среде. Культивирование продолжалось 7 дней. Антагонистическое действие определялось наложением блоков на свежезасеянный газон тест-культуры. Определение антибактериальной способности проводилось на мясо-пептонном агаре, антидрожжевого и антигрибного действия — на сусло-агаре. Антиактиномицетное действие исследовалось на среде СР1 с глюкозой. В результате проведенных исследований выявлено, что *Act. fradiae* 119 и штамм 110 активно подавляют грамположительные и грамотрицательные бактерии, некоторые виды микобактерий, дрожжи, клубеньковые бактерии, грибы и актиномицеты. Способность усваивать различные источники углерода штаммами проверяли на агаризованной среде Придхэма. В качестве источников углерода использовались разные вещества: моносахариды — глюкоза, арабиноза, галактоза, ксилоза, рамноза, лактоза, манноза; дисахариды — сахароза, раффиноза, мальтоза; полисахариды — крахмал; полиспирты — маннит, сорбит; соли органических кислот — лимоннокислый Na, уксусно-кислый натрий. Источники углерода добавляли в количестве 1%. Из источников углеродного питания культуры хорошо усваивают глюкозу, галактозу, ксилозу, манозу, мальтозу, крахмал; слабо — арабинозу, раффинозу, сорбит; не усваивают рамнозу, маннит, сахарозу, лимонно-кислый и уксусно-кислый Na.

Способность усваивать различные источники азотного питания определяли при выращивании культур на синтетической среде Придхэма. Азотными компонентами служили минеральные и органические источники азота.

На основании проведенных исследований выявилось, что из источников азотного питания штаммы усваивают хорошо нитраты, α -аланин, β -аланин, треонин, арганин, лизин, глицин, аспарагиновую кис-

лота. Умеренно ассимилируют: NH_4NO_3 , $(\text{NH}_4)_2$, HPO_4 , мочевину, цистин, метионин. Слабо усваивают NH_4Cl , лейцин, валин, фенил-аланин, тирозин, триптофан, гуанин, аспарагин, изолейцин. Из физиологических свойств актиномицетов исследовалась их способность сбраживать молоко, разжижать желатину, гидролизовать крахмал, образовывать меланоидный пигмент. Коагуляция и пептонизация молока определялись путем высева штаммов на обезжиренное молоко. Посевы выдерживались в термостате при 28°C . Наблюдение за изменением молока проводилось на 7, 10, 15 и 30-е сутки роста. Выявилось, что *Act. fradiae* 119 и штамм 110 интенсивно пептонизируют молоко. Определение разжижения желатины проводилось путем посева уколом в столбики 15%-ной мясопептонной желатины. Актиномицеты имели протеолитические ферменты и полностью разжижали желатину. Окраска желатины оставалась неизменной. С целью изучения гидролиза крахмала штаммы засеивали штрихом на крахмально-аммиачный агар. Через 8—9 суток роста поверхность среды заливалась разведенным раствором Люголя. О гидролитической активности штаммов судили по диаметру бесцветной зоны гидролизованного крахмала. Культуры интенсивно гидролизовали крахмал. Способность штаммов разрушать клетчатку определялась на жидкой среде Гетчинсона. Штамм 110 на клетчатке растет лучше, чем *Act. fradiae* 119. Исследуемые актиномицеты восстанавливают нитраты. Образование меланоидных пигментов определяли на среде с тирозином. Результаты опыта фиксировали через 24, 48, 72 ч после посева. Образование меланоидного пигмента не отмечалось. С целью изучения формы колоний у актиномицетов были произведены засеивы: большего числа чашек на среде СР1 с глюкозой и на картофельном агаре. На среде СР1 с глюкозой выявлены колонии четырех типов.

I тип — колония круглая, цветкообразной формы, в центре бугорок голый без воздушного мицелия, вокруг центра развивается круг с белым воздушным мицелием. В остальной части колония покрыта розовым воздушным мицелием (рис. 3). В популяциях у *Act. fradiae* 119 и штамма 110 преобладают колонии таких форм (рис. 5).

II тип — колония в центре выпуклая, у штамма 110 покрыта коричневым воздушным мицелием, а у *Act. fradiae* 119 белым воздушным мицелием. III тип — у обеих культур колония имеет в центре голое место, окруженное розовым воздушным мицелием. IV — колонии голые, круглые, без воздушного мицелия. На картофельной среде у *Act. fradiae* выявлены колонии 7 типов, а у штамма 110 — четырех.

Изучая формы колонии *Act. fradiae* 119 и у штамма 110 на разных средах, мы выявили, что колонии различаются между собой по форме у одного и того же вида или штамма. Культура актиномицета на среде СР1 с глюкозой и картофельном агаре образуют единичные голые колонии. Нас интересовало являются ли они естественными аспорогенными вариантами. С этой целью полученные голые колонии выделяли в пробирках на СР1 с глюкозой. Но при первом же пересеве голые варианты возвращались к исходной форме — образовывали розовый воздушный мицелий.

При сопоставлении морфологических культуральных, физиолого-биохимических и антагонистических свойств *Act. fradiae* 119 и штамма 110 выявлено, что существенных различий у этих культур не наблюдается. Кроме того, они сходны и с описанием вида *Actinomyces fradiae* [4].

ЛИТЕРАТУРА

1. Красильников Н. А. Лучистые грибки и родственные им организмы, Изд-во АН СССР, М., 1938.
2. Красильников Н. А. Определитель лучистых грибков, Изд-во АН СССР, М., 1941.

3. Красильников Н. А., Калакуцкий Л. В. Биология отдельных групп актиномицетов, «Наука», М., 1965.
4. Красильников Н. А. Лучистые грибки, «Наука», М., 1970.
5. Кучаева А. Г., Гешева Р. А., С. Д. Таптыкова. Българска академия на наука, XV, 1963, 19—32.
6. Патараია Д. Т., Н. В. Дурмишидзе, Д. А. Долидзе, Ц. С. Турмანიძე. Сообщения АН ГССР, 76, 3, 693—695, 1974.
7. Waksman S. A., Curtis R. E. Soil Sci., 1, 99—134, 1916.
8. Waksman S. A. Neomycin, its nature and practical application. Rutgers Univ., New Brunswick, 1958.
9. Waksman S. A., Lechevalier H. Science, 109, 305—307, 1949.

პროტეოლიზური ფერმენტების პროდუცენტ-აქტინომიცეტების ბიოლოგიური თვისებები

დ. პატარაია, ც. თურმანიძე, დ. ა. დოლიძე

საქართველოს სსრ მეცნიერებათა აკადემიის ბოტანიკის ინსტიტუტი,
საქართველოს სსრ მეცნიერებათა აკადემიის მცენარეთა ბიოქიმიის ინსტიტუტი, თბილისი

რ ე ზ ი უ მ ე

საქართველოს ნიადაგებიდან გამოყოფილი აქტინომიცეტების პროტეოლიზური ფერმენტების აქტივობის შესწავლისას გამოვლენილ იქნა შტამი 110, რომელიც წარმოადგენს ამ ფერმენტების საუკეთესო პროდუცენტს, შესწავლილია ამ შტამის კულტურალური, მორფოლოგიური, ბიოქიმიურ-ფიზიოლოგიური და ანტაგონისტური თვისებები. კვლევის შედეგად მიღებული მონაცემების საფუძველზე მიგვაჩნია, რომ შტამი 110 თავისი ბიოლოგიური თვისებებით *Actinomyces fradiae*, Krassilnikov, 1970-ის მსგავსია.

BIOLOGICAL PROPERTIES OF ACTINOMYCETES-PRODUCENT PROTEOLYTIC ENZYMES

D. Th. PATARAIA, Ts. C. TURMANIDZE, D. A. DOLIDZE

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

S u m m a r y

Studies of proteolytic enzyme activities of actinomycetes isolated from the soils of Georgia have revealed strain 110, which is the best producent of these enzymes.

The cultural, morphological, biochemical, physiological and antagonistic properties of strain 110 were studied.

On the basis of the results obtained and the data reported in the literature strain 110 by its biological properties resembles the species *Actinomyces fradiae*, Krassilnikov, 1970.

УДК 553.32 631.46

МИКРОБИОЛОГИЯ

РАСПРОСТРАНЕНИЕ МИКРООРГАНИЗМОВ В РУДАХ И ПРОДУКТАХ ОБОГАЩЕНИЯ ЧИАТУРСКОГО МЕСТОРОЖДЕНИЯ

Л. И. Сахвадзе, М. Ш. Гвилава, Н. Д. Керкадзе

Кавказский институт минерального сырья, Тбилиси

Поступила в редакцию 31.5.1977

Изучено распространение различных физиологических групп микроорганизмов в рудах и продуктах обогащения Чиатурского месторождения. Установлено, что основными микроорганизмами, широко распространенными по всему месторождению, являются: неспорообразующие бактерии из родов *Pseudomonas*, *Aeromonas*, *Achromobacter* и других, спорообразующие бактерии из рода *Bacillus*: *Bac. mesentericus*, *Bac. mycoides*, *Bac. subtilis*, *Bac. polymyxa*, *Bac. circulans*; марганецоксиляющие бактерии из рода *Leptothrix*; *Metallogenium* и марганцевосстанавливающие бактерии.

Изучены также некоторые физико-химические свойства руд и рудничных вод данного месторождения и установлено, что условия (рН-8,3—9,0; Eh 289—559 мВ; rH_2 —25,8—35,9 и др.) в рудах, в рудничных водах и продуктах обогащения Чиатурского месторождения вполне благоприятны для развития марганцевых бактерий различных физиологических групп.

В. И. Вернадский [1], Л. П. Листова [2], Б. В. Перфильев, Д. Е. Габе [5], Г. А. Соколова-Дубинина, З. П. Дерюгина [4] и др. установили, что процессы окисления и восстановления марганца протекают с участием марганецоксиляющих и марганцевосстанавливающих бактерий, принадлежащих к разным физиологическим группам.

Целью настоящей работы было изучение микрофлоры Чиатурского месторождения, выделение из них основных микроорганизмов, способствующих выщелачиванию марганца из бедных руд и хвостов обогащения. Исследование представляет определенный интерес, так как в Грузии оно проводится впервые.

Бактериологическим исследованиям подверглись руды, рудничные воды, шламы и концентраты из обогатительных фабрик, хвосты основной флотации и др. Всего было отобрано и обработано 68 образцов.

Работа выполнена общепринятыми методами, используемыми в области почвенной и геологической микробиологии. Учет микроорганизмов, окисляющих марганец, проводили на средах Н. Д. Савельевой [3], Г. А. Соколовой-Дубининой и З. П. Дерюгиной [4]. Для изучения бактерий, восстанавливающих марганец применяли агаризованную и жидкую среду С. М. Бромфильда.

На мясо-пептонном агаре учитывали общее число сапрофитных бактерий. Для учета спорозоносных форм бактерий пользовались смесью мясо-пептонного агара с сусло агаром по методике Е. Н. Мишустина. На минеральной среде Чапека учитывали общее число микроорганизмов, актиномицетов и грибов. Для учета количества аммонификаторов применяли пептонную воду, нитрификаторов — среду С. Н.



Виноградского, а для денитрификаторов использовалась среда Гиль-та (в модификации Е. Ф. Березовой).

Значение рН, Eh, rH_2 в лабораторных условиях определялось электрометрическим методом с помощью лабораторного рН метра рН-340.

Марганец в растворе определялся фотокolorиметрическим методом. Проводили полный силикатный анализ руд шламов и хвостов обогащения.

При изучении микрофлоры Чиатурского месторождения наиболее часто встречающиеся типичные микроорганизмы выделялись в чистую культуру.

Для установления выщелачивающей способности выделенных штаммов были поставлены сравнительные опыты.

Отбор наиболее активного штамма выделенных микроорганизмов проводили путем изучения степени бактериального выщелачивания и по величине зоны растворения марганца.

Учет марганецоксиляющих микроорганизмов на различных средах показал, что основным организмом, широко распространенным по всему месторождению, является *Metallogenium*. Рост его на средах наблюдается в симбиозе с грибами или бактериями. Наиболее обсемененными этим микроорганизмом оказались рудничные воды (табл. 1) и карбонатные руды нагорья Перевиси. Их количество значительно меньше в продуктах обогащения, а в шламах и хвостах Центральных обогатительных фабрик вовсе отсутствует.

Наши данные подтверждаются литературными данными некоторых исследователей [4, 5], которыми также были обнаружены окисляющие марганец организмы в микроразделах иловых отложений.

На средах, обычно применяемых для культивирования других марганецоксиляющих организмов, а именно на средах, применяемых Г. А. Соколовой-Дубининой и З. П. Дерюгиной [4], при высеве материала на образцах данного месторождения наблюдался хороший рост *Metallogenium* и лишь в исключительных случаях развивались другие марганецоксиляющие организмы. Однако ввиду отсутствия роста при пересеве и невозможности дальнейшего культивирования эти организмы не были идентифицированы.

Учет бактерий, окисляющих марганец рода *Leptothrix*, проводили на жидких минеральных средах Н. Д. Савельевой [3]. Опытами установлено, что клетки бактерии рода *Leptothrix* встречаются в рудничных водах нагорья Дарквети, Перевиси и Итхвиси; в остальных нагорьях и продуктах обогащения наличие *Leptothrix* не наблюдалось.

Интересным оказался факт широкого распространения в рудах и в рудничных водах организмов, принимающих участие в восстановлении марганца (табл. 1).

По литературным данным [4, 6] восстановление марганца происходит при одновременном окислении различных органических веществ. Содержание органического вещества в марганцевых рудах составляет, как правило, в среднем 0,1—0,5%.

Возможно, восстановление марганца протекает в условиях месторождения при участии указанных микроорганизмов. В этом случае появление закисных форм марганца во всех типах руд и, особенно, в окисных рудах может объяснить присутствие в них *Metallogenium*. Однако требуется проведение дальнейших исследований как в отношении более детального изучения выделенных культур восстанавливающих организмов, так и их способности восстанавливать марганец при окислении экстрагированного из руд органического вещества.

Кроме специфических групп марганцевых бактерий, нами была изучена микрофлора Чиатурского месторождения.

Результаты микробиологических анализов руд, рудничных вод и хвостов обогащения показывают, что бактерии-аммонификаторы широко представлены в Чиатурском месторождении (рис. 1); их значительно больше в рудничных водах, чем в рудах. Наименьшее их количество встречается в шламах и хвостах обогащения.

Таблица 1
Распространение марганецокисляющих и марганцевосстанавливающих микроорганизмов

Вариант	Место отбора образцов	Тип руды	Наличие марганецвосстанавливающих микроорганизмов	Наличие марганецокисляющих микроорганизмов	
				<i>Leptothrix</i>	<i>Metallogenium</i>
1	Нагорье Дарквети	Карбонатная руда	+	—	+
2		Окисная руда	+	—	—
3		Рудничная вода	+	+	+
4		Водная смесь шлама НОФ	—	+	+
5		Шлам промывки руд НОФ	+	—	+
6		Концентрат НОФ	—	—	—
7	Нагорье Перевиси	Карбонатная руда	+	—	+
8		Окисная руда	+	—	—
9		Водная смесь шлама Пероф	+	+	—
10		Шлам промывки руд Пероф	—	+	—
11		Концентрат Пероф	—	—	—
12	Нагорье Шукрути	Окисная руда	+	—	—
13		Рудничная вода	+	+	—
14		Шлам ЦОФ-1	—	—	—
15	Нагорье Итхвиси	Карбонатная руда	+	+	+
16		Рудничная вода	+	+	+
17		Шлам ЦОФ-2	+	+	+
18	Хвосты ЦОФ-1, ЦОФ-2		—	—	+
19	Нагорье Ргши	Окисная руда	+	—	—
20		Рудничная вода	+	—	—
21	Нагорье Мгвимеви	Окисная руда	+	—	—
22		Водная смесь шлама	—	—	—
23		Шлам ОФ-29	—	—	—

1. НОФ—Новая обогатительная фабрика
2. ПЕРОФ—Перевисская обогатительная фабрика
3. ЦОФ—Центральная обогатительная фабрика
4. ОФ—Обогатительная фабрика

Количество бактерий нитрификаторов в Чиатурском месторождении значительно меньше. Их максимальное количество находится в карбонатных рудах нагорья Дарквети и в концентрате Перевисской обогатительной фабрики (рис. 1).

Количество денитрифицирующих бактерий значительно больше в рудничных водах Чиатурского месторождения, чем в рудах. Количес-

во нитрификаторов также больше в карбонатных рудах, чем в окисных (рис. 1).

В Чиатурском месторождении также изучали спороносные и неспороносные формы бактерий. Как видно из рисунка 2, в данном месторождении неспорообразующие бактерии растут хорошо. Их количество значительно больше в рудах, чем в рудничных водах и продуктах обогащения. Максимальное их количество в карбонатных рудах нагорья Дарквети и в шламах обогатительной фабрики № 29.

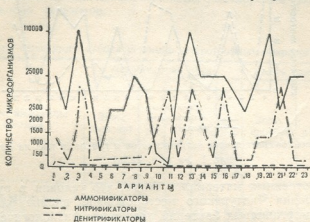


Рис. 1. Распространение аммонифицирующих, нитрифицирующих и денитрифицирующих бактерий (в тыс. на 1 г. абс. сух. руды или 1 мл руд. воды)

Количество спорообразующих бактерий в Чиатурском месторождении значительно меньше, чем неспорообразующих, а в концентрате Перевисской обогатительной фабрики и карбонатных рудах нагорья Итхвиси они вообще отсутствуют (рис. 2).



Рис. 2. Количественное соотношение спороносных и неспороносных бактерий (в тыс. на 1 г абс. сухой руды или 1 мл руд. воды)

Из спорообразующих бактерий в Чиатурском месторождении широко представлены *Bac. mesentericus*, *Bac. mycoides*, *Bac. subtilis*, *Bac. cereus*, *Bac. polymyxa* и *Bac. circulans*.

По результатам опыта (рис. 3) видно, что количество актиноциетов и грибов значительно больше в продуктах обогащения, чем в рудах Чиатурского месторождения.

При изучении некоторых физико-химических особенностей проведен полный силикатный анализ руд, рудничных вод и продуктов обо-

гашения Чиатурского месторождения. Установлено, что руды и продукты обогащения Чиатурского месторождения характеризуются: Fe 8,3—9,0; Eh 310—549 мВ; rh_2 25,8—32,0; Mn 9,5—58,75; MnO_2 5,4—88,5 и др.

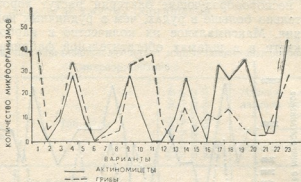


Рис. 3. Количественное соотношение актиномицетов и грибов (в тыс. на 1 г абс. сух. руды или 1 мл руд. воды)

Из рассмотренных материалов видно, что условия в рудах и продуктах обогащения Чиатурского месторождения вполне благоприятны для развития марганцевых бактерий различных физиологических групп.

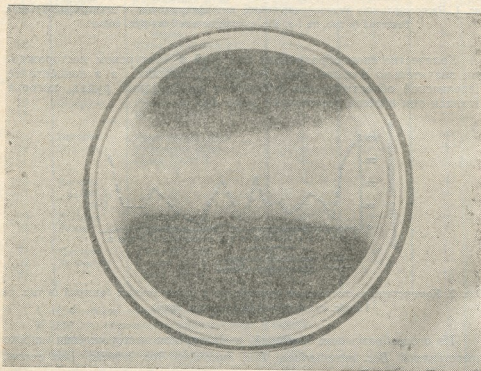


Рис. 4. Зоны растворения марганца (на смесь окисного шлама) вокруг шестисуточного стрихового налета штамма 205

При изучении микрофлоры Чиатурского месторождения наиболее часто встречающиеся специфические марганцевые микроорганизмы вы-

делялись в чистую культуру. Всего было выделено 250 штаммов бактерий.

Отбор наиболее активного штамма производился путем изучения степени бактериального выщелачивания марганцевой руды в стационарных условиях и по величине зоны растворения марганцевой руды на соответствующих питательных средах. Максимальные значения извлечения марганца и максимальные зоны растворения служили критерием активности штаммов.

Таблица 2
Результаты первичного отбора штаммов гетеротрофных микроорганизмов

№ штамма	Место выделения штамма	Карбонатная руда				Смесь окисных шламов					
		Зоны просветления	pH	Eh, мВ	гН ₂	Извлечение марганца, %	Зоны просветления	pH	Eh, мВ	гН ₂	Извлечение марганца, %
5	Хвосты ЦОФ-1 и ЦОФ-2	7++++	5,5	330	24	9,8	10++++	5,0	444	25	14,2
10	Вод. шлам НОФ	7+++	7,75	464	31,5	0,9	8+++	6,8	504	30,6	9,4
17	"	6++++	5,0	344	23	10,2	8++++	5,8	474	27,6	12,8
19	"	0	7,85	399	28,7	0	3+++	6,9	514	30,8	7,2
23	Шлам НОФ	5++++	6,95	310	23,9	10,3	2+	7,95	516	32,9	8,62
28	"	0	7,75	444	30,5	0,9	2+	7,3	509	32,6	6,4
29	"	3++++	7,75	454	30,5	0,9	3++++	7,8	504	32,6	10,7
39	"	2+	7,6	454	30,2	0,9	2+	7,4	510	32,0	10,7
51	"	2+	7,75	424	29,5	0	5++++	7,6	519	33,5	7,1
63	Нагорье Ихтвиси	2+	8,1	419	30,2	0,9	5++++	7,3	514	31,6	5,4
68	Нагорье Шукрути	10+++	7,6	394	28,2	6,9	8+	7,8	464	31,6	6,4
86	"	2+	8,1	419	30,2	0,9	2+	6,6	459	28,2	4,7
91	"	0	7,55	429	29,1	0,7	8++++	6,7	514	30,4	6,4
94	"	2+++	7,8	429	39,6	2,2	2+	7,5	509	32,0	4,7
95	Нагорье Шукрути	3+++	7,75	449	30,5	0,7	2+	5,6	474	27,2	4,7
96	"	3++	7,75	444	30,5	2,2	4+++	5,7	604	31,4	4,7
99	"	2++++	7,45	399	27,9	0,9	3+	6,4	494	29,8	8,2
100	"	0	7,45	349	27,0	0	3+	5,6	494	28,2	4,7
107	"	2++	7,6	364	27,2	0	2+	5,7	479	27,4	4,7
113	"	2+	7,5	329	26,0	6,9	2+	6,0	509	29,0	14,7
125	"	10++++	6,1	380	25,2	9,0	14++++	5,9	420	25,8	12,8
126	"	8++++	5,8	320	22,6	12,1	12++++	5,7	430	25,4	16,8
205	"	10++++	6,8	370	25,6	12,7	10++++	6,0	480	28,0	16,2
К	"	0	7,0	429	28	0	0	6,8	535	31,6	0

Отбору подвергались вышеуказанные штаммы.

Исходные пробы марганцевых руд, измельченные до 0,1 мм (карбонатная руда) и 0,1 мм (смесь окисных шламов), в количестве 1 г помещались в коническую колбу (100 мл), заливались питательной средой С. М. Бромфильда (40 мл) и засеивались стандартной взвесью исследуемых суточных культур.

Колбы с указанными компонентами вставлялись в термостат при температуре 28°C. В контрольные образцы бактериальная культура не вводилась. После истечения 21 суток выщелаченная пульпа фильтровалась и определялось содержание марганца в растворе. Для биологической характеристики процесса в исходных и в конечных растворах определялось значение pH и окислительно-восстановительный потенциал.

Опыты по изучению зоны растворения марганца микроорганизмами проводили на агаризованной среде, содержащей в качестве источников

углерода глюкозы (20 г/л), азот — сульфат аммония (0,5 г/л) и измельченные до пылевидного состояния (0,07 мм) окисный шлам и карбонатную (содержит 1% фракции руды) руду.

Интенсивность и характер роста микроорганизмов определяли по величине зоны просветления, образуемой культурами при выращивании их в виде штриха на среде в течение шести суток.

Как видно из полученных данных (табл. 2), извлечение марганца из марганцевой руды в зависимости от использования различных штаммов гетеротрофных микроорганизмов находится в пределах 0,7—16,8%. Следует отметить, что в контрольных опытах в растворе марганца не обнаружен. Наиболее активными оказались штаммы гетеротрофных микроорганизмов: 205, 126, 125, 113, 5, 17, 10, которые дали интенсивные зоны растворения и наиболее высокие проценты выщелачивания марганца.

Таким образом, принимая во внимание максимальные извлечения марганца из смеси окисного шлама и 16,8% карбонатной руды, а также максимальные зоны растворения марганца, для дальнейших технологических исследований бактериального выщелачивания марганца из исследуемых штаммов выбраны наиболее активные штаммы: 205, 126, 125, 17, 5, 10.

Проведенные опыты подтвердили возможность бактериального выщелачивания марганца из бедных руд и хвостов обогащения Чиатурского месторождения и целесообразность продолжения исследований в этом направлении.

ЛИТЕРАТУРА

1. Вернадский В. И. Избранные сочинения, I, Изд-во АН СССР, М., 1954.
2. Листова Л. П. Физико-химические исследования условий образования окисных и карбонатных руд марганца, Изд-во АН СССР, М., 1961.
3. Савельева Н. Д. Микробиология, 34, 5, 895—900, 1965.
4. Соколова-Дубинина Г. А., Дерюгина З. П. Микробиология, 35, 2, 344—349, 1966.
5. Перфильев Б. В., Габе Д. Р. Роль микроорганизмов в образовании железо-марганцевых озерных руд, «Наука», М.-Л., 1964, 16—54.
6. Штеренберг Л. Е., Дмитрик А. Л., Нестеренко И. П. Изв. АН СССР, сер. геолог., I, 97—109, 1969.

მიკროორგანიზმთა გავრცელება შიპაურის საბადოს მადნებსა და წარმოების პროდუქტებში

ლ. სახვაში, მ. გვილაბა, ნ. ძირაძე

მინერალური ნედლეულის კავკასიის ინსტიტუტი, თბილისი

რ ე ზ ი უ მ ე

შესწავლილია შიპაურის საბადოს მადნების, მადნიდან გამომდინარე წყლებისა და წარმოების პროდუქტების მიკროფლორა. აღმოჩნდა, რომ საბადოს ფართოდაა გავრცელებული არასპოროვანი ბაქტერიები: *Pseudomonas*, *Aeromonas*, *Achromobacter*; სპოროვანი ბაქტერიები: *Bacillus mesentericus*, *Bac. mycoides*, *Bac. subtilis*, *Baz. cereus*, *Bac. polymyxa*, *Bac. circulans*; მარგანეტის დამკანკველი ბაქტერიები *Leptothrix*, *Metallogenium*, მარგანეტის აღმდგენელი ბაქტერიები და სხვა.

შესწავლილია აგრეთვე ამავე საბადოს მადნების, მადნიდან გამომდინარე წყლებისა და წარმოების პროდუქტების ზოგიერთი ფიზიკურ-ქიმიური თვისებები. გამოჩვენდა, რომ ქიატურის საბადოს მადნებში, მადნიდან გამომდინარე წყლებში და წარმოების პროდუქტებში ხელსაყრელი პირობებია (pH—8,3—9,0; Eh—289—559mv; rH₂—25,8—35,9 და სხვა) მარგანეცის ბაქტერიების განვითარებისათვის.

SPREADING OF MICROORGANISMS IN DIFFERENT ORES AND PRODUCTS OF ENRICHMENT OF CHIATURA DEPOSIT

L. I. SAKHVADZE, M. Sh. GVILAVA, N. D. KERKADZE

Caucasian Institute of Mineral Resources, Tbilisi, USSR

Summary

Spreading of different physiological groups of microorganisms in ores and products of concentration of Chiatura deposit was studied.

The principal microorganisms widely spread all over the deposit were shown to be nonsporeforming bacteria of *Pseudomonas*, *Aeromonas*, *Achromobacter*, etc. origin; Sporeforming bacteria of Bacillus origin: *Bac. mesentericus*, *Bac. mycoides*, *Bac. subtilis*, *Bac. cereus*, *Bac. polymyxa*, *Bac. circulans*; manganese-oxidizing ones of *Leptothix* origin, Metallogenium and manganese-restoring bacteria.

Study of some physico-chemical properties of ores and mine waters of the given deposit has shown that pH is 8.3—9.0; Eh 289—559 mv; r_H—25.8—35.9, etc. All this provides good conditions for the development of manganic bacteria in different physiological groups.

СИНТЕЗ ВИТАМИНОВ ГРУППЫ «В» НЕКОТОРЫМИ ПРЕДСТАВИТЕЛЯМИ РОДА *PENICILLIUM*

М. Г. Урушадзе, Е. В. Мирианшвили, М. В. Чхиквишвили,
Л. М. Мумладзе

НИИ садоводства, виноградарства и виноделия МСХ ГССР, Тбилиси

Поступила в редакцию 21.4.1977

Изучался синтез витаминов группы «В» (B_1 , B_2 , B_3 , B_6 , Н, РР) плесневыми грибами ризосферы виноградной лозы. Исследовалась витаминобразующая способность 12 видов из рода *Penicillium*. Выяснилось, что исследованные представители грибов из рода *Penicillium* в основном являются активными продуцентами витаминов группы «В». Содержание витаминов в биомассе грибов в среднем в 3—5, а иногда в 10 раз превышает количество этих веществ в культуральной жидкости. Одни культуры грибов синтезируют и накапливают эти вещества в клетках и не выделяют их в окружающую среду, другие, наоборот, полностью выделяют в среду все количество синтезированного ими витамина. Количество витаминов в культуральной жидкости изменяется по мере старения культуры.

Плесневые грибы в процессе своего развития вырабатывают вещества, которые имеют огромное значение для развития живых организмов. Множество грибов выделяют биологически активные вещества: витамины, ферменты, антибиотики, гормоны и т. д.

На основании литературных данных можно привести огромное количество фактического материала о синтезе витаминов группы «В» бактериями, дрожжами или дрожжеподобными грибами, тогда как работы по изучению синтезирующей способности грибов ограничены. Первые сведения в этом направлении касаются изучения потребностей грибов в витаминах. Затем Вустер с сотрудниками [9] обнаружили, что из исследованных грибов семейства *Penicillium* только *P. digitatum* нуждается в тиамине и сравнительно в меньшей степени пантотеновой кислоте и биотине.

В последующий период исследователи изучили синтез и выделение некоторых витаминов отдельными видами плесневых грибов. Так, Акуароно и Пичи [7] определили количество витамина B_2 в почве и грибах. По их данным, некоторые представители рода *Penicillium* синтезировали витамин в пределах 750,0 мкг/л. Ван Ланен и Таннер [8] показали, что *P. chrysogenum* образовал 0,57—1,5 мкг/г биотина и 23 мкг/г пиридоксина.

Э. К. Кипиани [4] обнаружила в культуральной жидкости *P. vitale* рибофлавин флавинадениннуклеотид. Синтез флавинов увеличивается по мере старения культуры.

В 1971 году Судзуки Юкио и Утида Кей [7] исследовали 6 штаммов *Aspergillus*, 3—*Mucor*, 4—*Penicillium*, *M. pilosus*, *R. oryzae*. На среде с мальтозой и избытком рибофлавина только у *M. pilosus* и *P. oryzae* не



обнаружено образование рибофлавина ($-\alpha$ -гликозида). Рибофлавин наиболее активно образовывался разными штаммами *Mucor*.

За последние годы особенно увеличилось число работ, посвященных выявлению микроорганизмов-стимуляторов и их испытанию с целью повышения урожая растений. Исследования показали, что основным действующим фактором микроорганизмов-стимуляторов в большинстве случаев являются содержащиеся в их метаболитах биологически активные вещества [4, 1, 3]. Кроме того, исследователи предполагают, что действия грибов на сельскохозяйственные культуры определяются теми биологически активными веществами, которые накапливаются в клетках или выделяются в среду во время своей жизнедеятельности.

В связи с этой целью нашего исследования являлось выявление способности плесневых грибов к биосинтезу витаминов группы «В» (B_1 , B_2 , B_3 , B_6 , Н, РР).

ОБЪЕКТЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Объектом исследования служили плесневые грибы из рода *Penicillium*, выделенные из почвы виноградника сорта «Ркацители», размещенного на коричнево-лесной почве.


Витамины группы «В» определялись нами микробиологическим методом. Для определения никотиновой кислоты мы использовали *Z. marxianus*—штамм 737 [1], для пиридоксина, пантотеновой кислоты и биотина—*Saccharomyces Ludwigii* К. М. по методу Помошниковой Н. А. [6], модифицированному во Всесоюзном НИИ витаминов. Определение же витаминов B_1 и B_2 проводили флуорометрическим методом В. А. Девятиной [2].

Витамины определяли как в сухой массе клеток, так и в культуральной жидкости исследуемых микроскопических грибов. При микробиологическом определении витаминов интенсивность развития индикаторной культуры определялась по мутности на ФЕКН-56. Расчеты проводили по стандартной кривой нарастания количества индикаторной культуры. Количество витаминов как в биомассе, так и в культуральной жидкости пересчитывали в $\mu\text{г}$ на 1 г сухого вещества.

Предварительно грибы выращивали на среде Чапека-Докса, в колбах с 300 мл среды при температуре 23—25°C. В культуральной жидкости грибов витамины группы «В» определяли на 4, 8, 12, 16-й день, а сравнительное изучение наличия витаминов в культуральной жидкости и биомассе проводили на 12-й день. По истечении сроков инкубации биомассу отделяли от культуральной жидкости через двойной бумажный фильтр, затем центрифугировали при 9 тыс. об/мин. Массу клеток высушивали в термостате при температуре 38—40°C. После этого биомассу измельчали на электронной мельнице и производили обработку материала для определения наличия в ней витаминов группы «В». При микробиологическом определении витаминов индикаторную культуру предварительно 2 раза пересеивали на среду Ридера для полного освобождения от исследуемого витамина.

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Результаты исследований показали, что в клетках грибов происходит образование, накопление и частичное выделение витаминов в окружающую среду. Кроме того, количество этих веществ в культуральной жидкости и в биомассе разных грибов различно. В большин-



стве случаев количество витаминов в биомассе больше по сравнению с культуральной жидкостью. Грибы с разной активностью синтезируют и выделяют витамины в питательную среду. По этому признаку все исследуемые культуры можно разделить на три группы: активные продуценты, малоактивные и неактивные формы.

Представители рода *Penicillium* активно синтезируют витамины группы «В». По содержанию тиамин особенно выделяются *P. crustosum*, *P. funiculosum*, *P. brevi-compactum*, *P. cyclopium*, которые в культуральной жидкости выделяют B_1 в большом количестве (от 5,0 до 10,0 мкг/г). Указанные культуры в основном и в своих клетках содержат витамин B_1 в значительном количестве (от 8,0 до 38,0 мкг/г).

Содержание тиамин в культуральной жидкости остальных штаммов значительно меньше и колеблется в пределах от 2,0 до 3,0 мкг/г. Имеются и такие представители, которые витамин B_1 вовсе не выделяют в культуральную жидкость. Такими культурами являются *P. janthinellum*, *P. jenseni* и *P. adametzi*. В биомассе же этих грибов тиамин обнаруживается в большом количестве (от 11,0 до 47,0 мкг/г).

Из рода *Penicillium* активными продуцентами рибофлавина являются *Penicillium sp.*, *P. atramentosum* и *P. nigricans*. Эти грибы в культуральной жидкости выделяют от 0,62 до 0,70 мкг/г рибофлавина, а в биомассе накапливают значительно больше. Заслуживает внимание и *Penicillium sp.*, который в культуральной жидкости выделяет 0,70 мкг/г.

Некоторые грибы из рода *Penicillium* не выделяют или выделяют в культуральные жидкости малое количество рибофлавина, но в биомассе накапливают гораздо больше. К таким культурам относятся *P. funiculosum* и *P. janthinellum*. В биомассе этих грибов витамин B_2 был обнаружен в пределах 16,0—12,0 мкг/г.

Все исследованные штаммы рода *Penicillium* являются одинаково активными продуцентами витамина B_3 . Они выделяют в культуральную жидкость от 8,4 до 15,6 мкг/г пантотеновой кислоты. Исключение составляет штамм *P. frequentans*, в культуральной жидкости которого было обнаружено низкое количество витамина B_3 (5,4 мкг/г). Количество витамина, накопленного этим грибом в биомассе (19,2 мкг/г), значительно превышает его наличие в культуральной жидкости. Количество витамина B_3 и в биомассе остальных пенициллов в два-три раза больше по сравнению с культуральной жидкостью.

Исследованные штаммы рода *Penicillium* оказались активными и в образовании витамина B_6 . Например, *Penicillium sp.*, *P. atramentosum*, *P. crustosum* выделяют в среду пиридоксин в количестве от 2,4 до 6,6 мкг/г, а в биомассе накапливают от 105,6 до 136,8 мкг/г. В культуральных жидкостях малоактивных штаммов из рода *Penicillium* было обнаружено сравнительно малое количество пиридоксина (3,6—2,4 мкг/г). Такими культурами являются *P. adametzi*, *P. frequentans*, *P. cyclopium* и *P. rubrum*, которые в клетках накапливают от 16,8 до 72,0 мкг/г витамина.

Из рода *Penicillium* активными продуцентами витамина Н являются: *P. nigricans*, *P. jenseni*, *P. cyclopium*, которые выделяют биотин в среду в пределах от 2,4 до 3,6 мкг/г, а в биомассе накапливают от 2,4 до 12,0 мкг/г.

Сравнительно в малом количестве (от 0,3 до 1,5 мкг/г) был обнаружен биотин в культуральной жидкости *P. atramentosum*, *P. nigricans*, *P. funiculosum*, *P. janthinellum*, *P. rubrum*. Однако в биомассе этих культур биотина накапливалось значительно больше (от 4,8 до 19,2 мкг/г).

Большинство исследованных культур рода *Penicillium* выделяют в среду от 10,8 до 12,0 мкг/г никотиновой кислоты, а в клетках накапливают от 24,0 до 81,6 мкг/г. Исключение составляют *P. crustosum*, *P. frequentans* *P. cyclopium*, накапливающие никотиновую кислоту в незначительном (3,0—2,8—0,0 мкг/г), а в биомассе — в большом количестве (96,0—50,4—79,2 мкг/г).

Кроме того, с целью установления характера выделения исследуемыми грибами в среду витаминов, мы провели исследования по динамике накопления их в культуральной жидкости. Содержание витаминов исследовалось в 4, 8, 12, 16-дневных культуральных жидкостях грибов.

Таблица 1
Синтез витаминов группы «В» грибами рода *Penicillium*
(мкг/г сухой биомассы)

Виды грибов	Тиамин		Рибофлавин		Пантотеновая кислота		Пиридоксин		Никотиновая кислота		Биотин	
	культуральная жидкость	биомасса	культуральная жидкость	биомасса	культуральная жидкость	биомасса	культуральная жидкость	биомасса	культуральная жидкость	биомасса	культуральная жидкость	биомасса
<i>Penicillium sp</i>	3,0	38,0	0,70	0,72	15,0	17,4	2,4	136,8	4,2	24,0	1,5	26,4
<i>P. atramentosum</i>	6,0	9,0	0,65	7,68	10,2	52,8	5,4	105,6	10,2	24,0	1,5	19,2
<i>P. crustosum</i>	8,0	8,0	0,22	5,76	14,4	98,4	6,6	124,8	3,0	96,0	1,2	14,4
<i>P. nigricans</i>	2,0	0,7	0,70	15,6	14,4	40,2	3,0	19,2	5,4	31,2	2,4	2,7
<i>P. janthinellum</i>	0	11,0	0	12,0	8,4	2,2	0	40,8	3,6	48,0	0,3	7,2
<i>P. jenseni</i>	0	38,0	0,40	3,24	13,2	74,8	4,2	45,6	7,2	60,0	3,6	9,6
<i>P. adamezti</i>	0	47,0	0,35	4,32	15,0	40,8	3,0	50,4	12,6	48,0	1,2	7,2
<i>P. frequentans</i>	2,0	9,0	0,30	1,4	5,4	19,2	2,4	16,8	2,8	50,4	1,5	4,8
<i>P. funiculosum</i>	5,0	16,6	0,32	16,0	14,4	33,2	4,2	132,2	12,0	81,6	1,2	9,6
<i>P. brevi-compactum</i>	10,5	15,0	0,20	2,0	15,6	16,8	6,6	43,2	10,8	33,6	1,5	9,6
<i>P. cyclopium</i>	5,0	10,0	0,42	1,88	13,8	52,8	3,6	72,0	0	79,2	3,0	12,0
<i>P. rubrum</i>	3,0	2,7	0,55	2,16	11,4	26,4	3,6	48,0	9,0	60,0	0,3	4,8

Исследования показали, что количество витаминов в культуральной жидкости грибов возрастает или, наоборот, уменьшается в соответствии с увеличением возраста культуры (табл. 2 и 3).

Интенсивный синтез тиамина культурами *Penicillium sp.*, *P. funiculosum* и *P. rubrum* осуществляется на протяжении всего периода исследования и достигает максимума на восьмой день. В последующие сроки происходит незначительное уменьшение количества этого витамина. В культуральной жидкости *P. crustosum*, *P. brevi-compactum* и *P. nigricans* тиамин начинает обнаруживаться с восьмого дня, а на 16-й день опять исчезает, а в культуральной жидкости *P. cyclopium* и *P. atramentosum* с возрастом увеличивается и максимума достигает на 16-й день (6,0 мкг/г).

Анализ процесса накопления витамина В₂ в динамике грибами рода *Penicillium* показывает, что в культуральных жидкостях большинства гри-

бов количество витамина растет с возрастом культуры и достигает максимума на 8-й день. Однако *Penicillium sp.* и *P. cyclopium* накапливают максимальное количество рибофлавина на 12-й день (0,70—0,42 мкг/г соответ-

Таблица 2
Динамика образования тиамин, рибофлавина и пантотеновой кислоты грибами рода *Penicillium*

Виды грибов	Количество витаминов в культуральной жидкости (мкг/г сухой биомассы)											
	Тиамин				Рибофлавин				Пантотеновая кислота			
	4 день	8 день	12 день	16 день	4 день	8 день	12 день	16 день	4 день	8 день	12 день	16 день
<i>Penicillium sp.</i>	2,0	4,0	3,0	2,0	0	0,60	0,70	0,48	5,4	16,0	15,0	15,0
<i>P. atramentosum</i>	6,0	2,0	6,0	16,0	0,54	0,72	0,65	0,30	8,4	9,6	10,2	10,8
<i>P. crustosum</i>	0	8,0	8,0	5,0	0,36	0,24	0,22	0,12	7,8	12,6	4,4	16,8
<i>P. nigricans</i>	0	4,0	2,0	0,0	0,12	0,78	0,70	0,56	5,4	10,8	14,4	15,0
<i>P. janthinellum</i>	6,0	0	0	0,0	0,24	0,36	0	0	0	0	8,4	6,0
<i>P. jenseni</i>	2,0	0	0	0,0	0,12	0,36	0,40	0,28	5,4	7,8	13,2	17,4
<i>P. adametzi</i>	2,0	0	0	0,0	0,12	0,72	0,35	0,30	0,6	16,8	15,0	14,4
<i>P. frequentans</i>	4,0	4,0	2,0	0,0	0,12	0,30	6,30	0,24	6,6	13,2	5,4	0
<i>P. funiculosum</i>	2,0	6,0	5,0	4,0	0,36	0,36	0,32	0,30	сл	13,8	14,4	15,6
<i>P. brevi-compactum</i>	0	12,0	10,0	0,0	0,24	0,36	0,20	0,12	5,4	15,0	15,6	15,6
<i>P. cyclopium</i>	0	0	5,0	6,0	0	0,24	0,42	0,42	13,2	13,2	13,8	13,8
<i>P. rubrum</i>	2,0	8,0	3,0	3,0	0,24	0,60	0,55	0,30	4,2	8,4	11,4	14,4

ственно). В культуральной жидкости *P. crustosum* максимальное количество витамина В₂ наблюдается на 4-й день, а в культуральной жидкости *P. funiculosum* держится на одном уровне на протяжении всего периода исследования.

Таблица 3
Динамика образования пиридоксина, никотиновой кислоты и биотина грибами рода *Penicillium*

Виды грибов	Количество витаминов в культуральной жидкости (мкг/г сухой биомассы)											
	Пиридоксин				Никотиновая кислота				Биотин			
	4 день	8 день	12 день	16 день	4 день	8 день	12 день	16 день	4 день	8 день	12 день	16 день
<i>Penicillium sp.</i>	2,4	4,8	2,4	1,2	1,2	6,6	4,2	5,4	1,5	2,4	1,5	1,5
<i>P. atramentosum</i>	3,0	4,8	5,4	7,2	3,6	9,6	10,2	15,0	2,1	3,9	1,5	0,6
<i>P. crustosum</i>	3,0	4,8	6,6	9,0	4,2	7,8	3,0	0	0,6	3,0	1,2	0,6
<i>P. nigricans</i>	3,6	4,8	3,0	3,0	5,4	9,6	5,4	3,0	1,2	2,7	2,4	0
<i>P. janthinellum</i>	0	6,6	0	0	0	5,4	3,6	2,4	0	0	0,3	0,3
<i>P. jenseni</i>	6,0	5,4	4,2	4,8	1,2	8,4	7,2	5,4	2,2	3,6	3,6	3,6
<i>P. adametzi</i>	0	0	3,0	0,0	4,2	5,4	12,6	13,2	1,2	3,6	1,2	0,3
<i>P. frequentans</i>	0	0	2,4	5,4	1,2	6,0	2,8	2,4	0,3	2,1	1,5	0,3
<i>P. funiculosum</i>	0	0	4,2	6,0	2,4	4,8	12,0	14,4	1,2	1,2	1,2	0,6
<i>P. brevi-compactum</i>	6,0	4,8	6,6	9,6	3,6	9,6	10,8	17,4	1,5	2,7	1,5	0,6
<i>P. cyclopium</i>	0	0	3,6	7,2	0	сл	0	0	0,6	1,2	3,0	4,2
<i>P. rubrum</i>	0	0	3,6	9,6	3,6	4,8	9,0	9,6	0	0	0,3	0,3

Накопление витамина В₂ в среде грибами *P. atramentosum*, *P. crustosum*, *P. nigricans*, *P. jenseni*, *P. funiculosum* и *P. rubrum* увеличивается по мере

старения культуры и достигает максимума на 16-й день. А в культуральной жидкости *P. admetzi* и *P. frequentans* максимальное количество пантотеновой кислоты обнаруживается на 8-й день, затем уровень содержания витамина несколько снижается. Что же касается *P. brevi-compactum*, то по мере роста грибов количество витамина в среде увеличивается до восьми суток, а в дальнейшем не изменяется.

Результаты опытов показали, что накопление пиридоксина в питательной среде грибами рода *Penicillium* в большинстве случаев возрастает до определенного количества с увеличением возраста культур. Такими культурами являются *P. atramentosum*, *P. crustosum*, *P. brevi-compactum*, которые витамин B_6 синтезируют на протяжении всего периода, однако максимальное количество накапливают на 16-й день. В культуральных жидкостях *P. admetzi*, *P. frequentans*, *P. funiculosum*, *P. rubrum* и др. витамин B_6 обнаруживается только на 12-й день. Однако синтез пиридоксина в некоторых случаях уменьшается с увеличением возраста культуры (*P. nigricans*).

Синтез и накопление никотиновой кислоты интенсивно осуществляется грибами рода *Penicillium* на протяжении всего периода роста и достигает максимума на восьмые сутки в культуральных жидкостях *Penicillium sp.*, *P. crustosum*, *P. nigricans*, *P. jenseni*, *P. frequentans*. Максимальное количество витамина в этих культурах колеблется в пределах 6,0—9,6 мкг/г, затем наличие витамина в среде несколько уменьшается. Остальные исследованные нами представители рода *Penicillium* накапливают максимальное количество витамина РР на шестнадцатый день и это количество колеблется в пределах 13,2—17,4 мкг/г.

Максимальное количество биотина в культуральных жидкостях большинства исследованных культур рода *Penicillium* обнаруживается на восьмые сутки роста. Например, в восьмидневной культуральной жидкости *Penicillium sp.* и *P. atramentosum* было обнаружено соответственно 2,4 мкг/г и 3,9 мкг/г биотина. А в культуральной жидкости *P. cyclopium* максимальное количество биотина обнаруживается на 16-й день. В культуральной жидкости *P. janthinellum* биотин обнаруживается только на 12-й день (0,3 мкг/г).

Таким образом, результаты проведенной работы дают нам возможность заключить, что исследованные нами грибы рода *Penicillium*, выделенные из ризосферы виноградной лозы, являются активными продуцентами витаминов группы «В» и, несомненно, обогащают среду своего обитания этими веществами не только после отмирания клеток, но и во время своей жизнедеятельности.

ЛИТЕРАТУРА

1. Возняковская Ю. М. Микофлора растений и урожай, «Колос», Л., 1969, 99—139.
2. Деятин В. А. Методы химического анализа в производстве витаминов, «Медицина», М., 1964, 94—140.
3. Клишаре А. А., Мишке И. В., Рипа И. С. В сб.: Химическая регуляция роста и развития растений, «Знание», Рига, 1969, 103—110.
4. Клигани Э. К. В сб.: Белки в медицине и народном хозяйстве, «Наукова думка», Киев, 1965, 144—149.



5. Красильников Н. А. Микроорганизмы почвы и высшие растения, Изд-во АН СССР, М., 1958, 244—253.
 6. Помошникова Н. А. В сб.: Витаминные ресурсы и их использование, Изд-во АН СССР, 3, 1955, 145—152.
 7. Судзуки Юкио, Утида Кэй. РЖБ, 12, Б765, 1971.
 8. Aquarone E., Picci G. Agric. ital., 61, 8, 252—260, 1961.
 9. Van Lanen J. M., Tanner T. W. J. Vitamins and Hormons, VI, 42—50, 1948.
 10. Wooster R. C., Cheldelin V. H. Arch. Biochem. Biophys., 8, 15—18, 1945.

„B“ ჯგუფის ვიტამინების სინთეზი *PENICILLIUM*-ის ბპარის ზომიერთი წარმომაღმანლის მიერ

ბ. შრუშაძე, ბ. მირიანაშვილი, მ. ჩხიკვიშვილი, ლ. მუმლაძე

საქართველოს სსრ სოფლის მეურნეობის სამინისტროს მეხეობის, მევენახეობისა და მეღვინეობის სამეცნიერო-კვლევითი ინსტიტუტი, თბილისი

რ ე ზ ი მ ე

შესწავლილ იქნა „B“ ჯგუფის (B₁, B₂, B₃, B₆, H, PP) ვიტამინების სინთეზი ვაზის რიზოსფეროში გავრცელებული *Penicillium*-ის გვარის 12 წარმომადგენლის მიერ. გამოკვლევებმა გვიჩვენეს, რომ საცდელი სოკოები, ძირითადად, „B“ ჯგუფის ვიტამინების ძლიერი პროდუცენტები არიან. ვიტამინების შემცველობა ბიომასაში საშუალოდ 3—5 და ზოგჯერ 10-ჯერ მეტია კულტურალურ სითხესთან შედარებით. ზოგიერთი ობის სოკო წარმოჰქმნის და აგროვებს თავის უჯრედებში ვიტამინებს ამა თუ იმ რაოდენობით და არ გამოჰყოფს გარემო არეში, მეორენი კი, პირიქით, სინთეზირებულ ვიტამინს გარემო არეში სრულად გამოჰყოფენ. კულტურალურ სითხეში ვიტამინების რაოდენობა იცვლება კულტურის ხნოვანების მიხედვით.

SYNTHESIS OF VITAMINS OF GROUP “B” BY SOME *PENICILLIUM* REPRESENTATIVES

M. G. URUSHADZE, E. V. MIRIANASHVILI, M. V. CHKHIKVISHVILI, L. M. MUMLADZE

Institute of Horticulture, Viticulture and Wine-making, Georgian Ministry of Agriculture, Tbilisi, USSR

S u m m a r y

Synthesis of vitamins of group “B” (B₁, B₂, B₃, B₆, H, PP) by mouldy fungi of rhizosphere of grape-vine was studied. Study of vitamin-forming aptitude of 12 species of *Penicillium* has revealed that the fungi examined are largely producers of vitamins of group “B”. The content of vitamins in biomass of fungi, on an average, 3—5 times or occasionally even 10 times exceeds the amount of vitamins in culture liquid. Some fungi can synthesize and accumulate these substances in their cells and do not exude them in the environment, whereas others exude in the environment the whole quantity of synthesized vitamins. The amount of vitamins in culture liquid varies with the aging of culture.

УДК 576.85

ВИРУСОЛОГИЯ

ИССЛЕДОВАНИЕ ИНТЕРФЕРОГЕННОЙ АКТИВНОСТИ БАКТЕРИОФАГА MS2

И. И. Георгадзе, Т. Г. Чанишвили, А. И. Когновицкая,
З. И. Алавидзе, Т. Г. Орлова, Т. В. Биркадзе

Тбилисский НИИ вакцин и сывороток МЗ СССР

Поступила в редакцию 4.6.1977

Была исследована интерферогенная активность фага MS2, интактных бактериальных клеток *E. coli* 2С 3060 (F+), РНК, выделенной из *E. coli* 2С и фага MS2, РНК фага MS2—pMS2, выделенной из зараженных клеток в стадии репликации.

Показано, что из отмеченных препаратов наиболее активным стимулятором интерферогенеза в клетках костного мозга и периферических лейкоцитах различного происхождения, а также в сыворотке белых мышей и мышей линий СВА является репликативная РНК фага MS2—pMS2.

Вопрос о том, какие (одно- или двуспиральные) структуры РНК вирусных или синтетических индукторов могут стимулировать интерферогенез, дискутируется до сих пор. Существующему мнению о том, что двух- или многоспиральность РНК является необходимым условием для интерферообразования [4, 9, 10] противоречат данные других авторов, показавших, что изолированные односпиральные нуклеиновые кислоты могут быть также хорошими стимуляторами синтеза интерферона [3, 8, 11].

Также разноречивы результаты, полученные при исследовании интерферогенной активности фагов и их нуклеиновых кислот. По данным некоторых авторов [5, 6, 7, 9, 12, 13, 15] только лишь репликативные формы бактериофагов MS2, f2 способны индуцировать интерферон. Несколько другие данные были представлены японскими авторами [14] относительно фага MS2 — одотяжевая РНК данного фага в результате обработки клеток куриного эмбриона индуцировала выработку интерферона и резистентность к вирусной инфекции.

В настоящем сообщении представлен материал по изучению интерферогенной активности РНК-содержащего фага MS2 и разных препаратов, полученных в процессе приготовления концентрата данного фага.

МЕТОДИКА

В работе был использован бактериофаг MS2 — активный (рис. 1) в отношении *Escherichia coli* С 3.060 (F+), содержащий РНК (молекулярный вес РНК $0,95—1,15 \times 10^6$, размеры частиц 24 мкм, длительность латентного периода 38 мин) [1]. Фаговые концентраты получали на бульоне с казеиновым гидролизатом и дрожжевым аутолизатом. Для полной адсорбции фаговых частиц на клетках *E. coli* добавляли хлорид каль-

ция (до концентрации 2,2 мл). Выращивание после добавления продолжалось 2 ч. Для полного разрушения клеток к лизату добавляли хлороформ (10 мл/л) и ЭДТА — (0,33 г/л), перемешивая в течение 30 мин при 35—36°, затем охлаждали до 2—4° и спустя 12 ч лизат центрифугировали при 30000 об/мин. Количество фаговых частиц в концентрате— 10^{11} пятнодоз/мл, в очищенном — 10^{12} пятнодоз/мл. В работе также использовали бактериальные клетки *E. coli* С 3.060 (F+), РНК, выделенную из бактериальных клеток и из концентрата фага MS2, и репликативную форму РНК, далее обозначенную как рMS2. Комплекс рMS2 выделяли из индуцированных бактериальных клеток на 15—20 мин после заражения. Данный комплекс оказался резистентным к действию РНКазы (100 γ /мл, 90 мин при 37°). РНК выделяли по методу Георгиева [2]. Содержание нуклеиновых кислот в препаратах измеряли на спектрофотометре в диапазоне 250—290 нм.

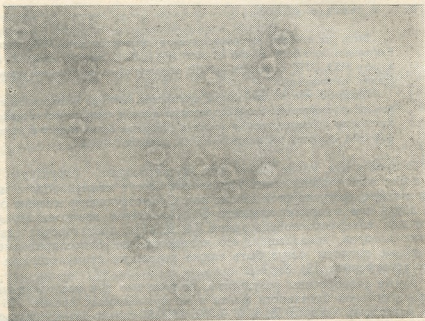


Рис. 1 Фаг MS2. $\times 210.000$

Интерферогенную активность препаратов проверяли во взвеси клеток костного мозга, селезенки и периферических лейкоцитов разного происхождения, а также *in vivo* на белых мышах и мышах линии СВА. Для индукции выработки интерферона препараты вводили в следующих количествах: клетки *E. coli* с концентрацией 10^4 — 10^8 /мл — *in vivo*, 200 микробных тел и выше в расчете на клетку — *in vitro*; фаг MS2 с титром 10^8 /мл и выше — *in vivo*, 1000 фаговых частиц на клетку — *in vitro*; РНК—20—50 γ /мл — *in vivo*, а 20—60 γ /мл—*in vitro*.

Оказалось, что противовирусные вещества, полученные при индукции отмеченными индукторами, обладают всеми свойствами интерферона (табл. 5).

Клетки костного мозга мышей и кур получали *ex tempore* промыванием стерильно вылушенных бедренных костей необходимым количеством среды 199. Концентрацию жизнеспособных клеток костного



мозга, селезенки и лейкоцитов крови доводили до 10^7 клеток смеси среды 199 с 5% бычьей сыворотки и добавляли индуктор в соответствующей дозе. Через определенное время инкубации при 37° и 1000 об/мин взвесь центрифугировали в течение 10 мин и брали надосадочную жидкость.

Для получения сывороточного интерферона подопытных животных заражали внутрибрюшинно соответствующими дозами индукторов и через определенные промежутки времени забирали кровь, ставили в термостат, отсасывали сыворотку и определяли в ней наличие интерферона.

Интерферонсодержащий материал, обработанный 10—20%-ным раствором HCl, доводили до pH 2,0—2,2, сохраняли 5—6 суток при 4° для инактивации интерфероненов, после чего 20—40%-ным раствором NaOH доводили pH до 7,2—7,4 и центрифугировали при 1500 об/мин. В пробирки с гомологичными клетками вносили по 1 мл интерферонсодержащей жидкости двукратного разведения; после 24 ч инкубации клеток при 37° в пробирки вносили по 100 ЦПД₅₀ вируса везикулярного стоматита в объеме 0,1 мл. Через 48 ч определяли титр интерферона по его последнему разведению, обеспечивающему сохранение клеточного монослоя от цитопатического действия индикаторного вируса (BVC).

РЕЗУЛЬТАТЫ

Во взвеси клеток костного мозга мышей были исследованы интерфероногенные свойства разных препаратов фага MS2 и бактериальной клетки *E. coli* 2С 3.060 (F+), а именно интактные клетки бактерий *E. coli*, РНК, выделенная из *E. coli*, фаг MS2, РНК, выделенная из данного фага, РНК рMS2, выделенная из зараженных клеток в стадии репликации. Полученные результаты представлены в табл. 1.

Таблица 1
Индукция выработки интерферона во взвеси клеток костного мозга препаратами, полученными в ходе приготовления MS2 фагового концентрата и выделения рMS2

Индукторы интерферона	Титры интерферона в ед/мл
<i>E. coli</i> С.3.060 (F+)	20
<i>E. coli</i> С.3.060 + MS2	40
Фаг MS2 (концентрат)	<10
РНК — <i>E. coli</i> С 3.060	<10
РНК — фага MS2	<10
рMS2 — фага MS2	320, 320

Как видно из таблицы, из всех препаратов, испытанных на интерфероногенную активность, большее количество интерферона индуцировала рMS2 — репликативная форма РНК фага MS2 (титр 320 ед/мл). Интерферон не обнаруживался в надосадочной жидкости культур при внесении нерепликативной формы РНК, выделенной из фага MS2, или самого фага MS2 и РНК, выделенной из бактериальных клеток *E. coli*. Малые титры интерферона были обнаружены при индукции клеток костного мозга бактериями *E. coli* и *E. coli*, зараженными фагом MS2 (титры интерферона 40 ед/мл).

Для исследования интенсивности интерферонообразования в различных системах в последующих опытах была исследована репликативная РНК — рMS2 фага MS2.

Мышам внутрибрюшинно вводили рMS2 и спустя 2, 4, 6, 8, 18, 24 и 48 ч в сыворотке животных определяли наличие интерферона. Как видно из табл. 2, максимальный титр сывороточного интерферона, индуцированного рMS2, наблюдается на 18 ч инфекции. Оказалось, что титры сывороточного интерферона, индуцированного рMS2, несколько выше в мышах линии СВА, чем в беспородных белых мышах.

Таблица 2
Образование сывороточного интерферона индуцированного рMS2

Продуценты интерферона	Средние титры интерферона по часам (в ед/мл)						
	2	4	6	8	18	24	48
Беспородные белые мыши	10	20	80	80—160	360	160	10
Мыши линии СВА	10	40	40	160	640	320	80

Примененный индуктор также успешно индуцировал образование интерферона во взвеси лейкоцитов человека и мышей, в клетках костного мозга разного происхождения (человека, мышей, кур) и клетках селезенки (табл. 3).

Таблица 3
Индукция выработки интерферона рMS2 во взвеси лейкоцитов и клеток костного мозга разного происхождения

Источник интерферона	Титры интерферона по опытам (в ед/мл)			
	1	2	3	4
Лейкоциты человека	80	40	80	80
Лейкоциты мышей	40	160	80	160
Лейкоциты кур	160	320	80	80
Человеческий костный мозг	80	40	80	
Мышиный костный мозг	320	160	160	
Куриный костный мозг	160	160		
Клетки селезенки кур	320	320		

Результаты проведенных исследований по зависимости индукции выработки сывороточного интерферона рMS2 от возраста животных показали (табл. 4), что мыши-сосунки на введение данного индуктора, в отличие от клеток взрослых мышей, вырабатывали сывороточный интерферон в ничтожно малых количествах (10 ед/мл).

Клетки костного мозга и лейкоциты мышей-сосунков вообще не продуцировали интерферон в ответ на введение рMS2 (табл. 4).

Были исследованы свойства нативных препаратов костномозгового, лейкоцитарного и сывороточного интерферона, индуцированных рMS2. Как видно из табл. 5, активность полученных противовирусных веществ на гомологичных клетках проявлялась в отношении вируса гезукулярного стоматита в разведениях 80, 640 и 320 ед/мл и не проявлялась на гетерологичных клетках. Они оказались стабильными при рН 2,0, утрачивали частично активность термообработкой (прогрев при 56° в течение 1 ч) и обработкой трипсином (37°, 30 мин).

Кроме того, они не нейтрализовали тест вируса (ВВС). Таким образом, полученные противовирусные вещества по всем исследуемым параметрам не отличались от вирусиндуцированного интерферона.

Таблица 4
Индукция выработки интерферона рMS2 в сыворотке и во взвеси клеток мышей разного возраста

Источник интерферона	Титры интерферона (в ед/мл), индуцированного рMS2 в сыворотке и клетках	
	взрослых мышей	мышей-сосунков
Сыворотка	640	<10
Клетки костного мозга	160	<10
Лейкоциты крови	80	<10

Таблица 5
Исследование некоторых свойств интерферонов, индуцированных рMS2 *in vivo* и *in vitro*

Продуценты интерферона	Титры интерферона после обработки			Взвесь ВВС+ИФ	Титрование на клетках		
	действия рН 2,0	действия +56°	действия трипсина		L	ФЧ	КФ
Сыворотка мышей	640	10	10	10 ⁶	640	10	<10
Человеческие лейкоциты	80	10	10	10 ⁴	10	80	<10
Мышинный костный мозг	320	20	10	10 ⁶	10	320	<10

Таким образом была показана интерферогенная активность репликативной формы РНК фага MS2—рMS2. Можно предположить, что наибольшая интерферогенная активность репликационной РНК фага MS2 связана с устойчивостью двунитовой формы РНК к воздействию клеточных РНК-аз.

ЛИТЕРАТУРА

1. Габрилович И. П. Основы бактериофагии, «Высшая школа», Минск, 1973.
2. Георгиев Г. П. В кн.: Химия и биохимия нуклеиновых кислот, «Медицина», Л., 1968, 71—119.
3. Baron S., Bogomolova M., Billiau A., Levy H. B. Proc. Nat. Acad. Sci. USA, **64**, 1, 67—74, 1969.
4. Colby C., Duesberg P. H. Nature, **222**, 5197, 940—944, 1969.
5. Doskočil I., Fuchsberger N., Vetrak I. Acta Virologica, **15**, 6, 523—537, 1971.
6. Doskočil I. Regional conference an interferon and interferon inducers, **2**, 1972, 3.
7. Gajdošová S., Doskočil I., Mayer V. Acta Virologica, **17**, 3, 196—202, 1973.
8. De Clerq E., Merigan T. C. Nature, **222**, 5199, 1148—1152, 1969.
9. Field A. K., Tytell A. A., Lampson S. P., Hilleman M. R. Proc. Nat. Acad. Sci (USA), **58**, 3, 1004—1009, 1967.
10. Field A. K., Lampson Q. P., Tytell A. A., Hilleman M. R. Proc. Soc. Exp. Biol. Med., **141**, 2, 440—441, 1972.
11. Fukada T., Ioshimi K., Masako U. Jap. J. Microbiol., **12**, 3, 329—341, 1968.
12. Hilleman M. R. Arch. Int. Med., **126**, 1, 109—124, 1970.



13. Hilleman M. R. Ann. N. Y. Acad. Sci., 173, 1, 623—628, 1970, Discussion 629, 639.
 14. Masaka M., Ioshimi K., Fukada T. Jap. J. Microbiol., 14, 303—309, 1970.
 15. Veřrak I., Fuchsberger N., Lackovich V. Acta Microbiologica Pol., Ser. A, 5 (22), 3—4, 155, 1973.

ბაქტერიოფაგ MS2 ინტერფერონოგენული თვისებების შესწავლა

ი. ბიორბაძე, თ. ხანოშვილი, ა. კოგნოვიტსკაია, ზ. ალავიძე, ბ. ორლოვა, თ. ბირკაძე

სსრკ ჯანმრთელობის დაცვის სამინისტროს თბილისის ვაქცინებისა და შრატების სამეცნიერო კვლევითი ინსტიტუტი

რ ე ზ ი უ მ ე

შესწავლილ იქნა MS2 ბაქტერიოფაგის, ნაწლავის ჩხირის ინტაქტური უჯრედების, MS2 ბაქტერიოფაგისა და ნაწლავის ჩხირიდან გამოყოფილი რნმ-ის, აგრეთვე MS2 ბაქტერიოფაგის რეპლიკაციური რნმ-ის ინტერფერონოგენური აქტივობა. ეს აქტივობა შესწავლილ იქნა ადამიანის, თავის ან ქათმის ძვლის ტვინის უჯრედებზე ან სხვადასხვა წარმოშობის პერიფერიულ ლეიკოციტებზე, აგრეთვე უჯრედ და CBA ხაზის თეთრი თავგების შრატში.

აღმოჩნდა, რომ ჩვენს მიერ შესწავლილი პრეპარატებიდან ყველაზე აქტიური ინტერფერონოგენური თვისებები აქვს PMS2 — MS2 ბაქტერიოფაგის რნმ-ის რეპლიკაციურ ფორმას, რომელთა მეოხებითაც ჩვენს ცდებში წარმოიქმნებოდა ინტერფერონის მაღალი აქტივობის ტიტრები.

STUDY OF THE INTERFERONOGENIC ACTIVITY OF PHAGE MS2

I. I. GEORGADZE, T. G. CHANISHVILI, A. I. KOGNOVITSKAYA, Z. I. ALAVIDZE, T. G. ORLOVA, T. V. BIRKADZE

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

S u m m a r y

Study has been made on the interferonogenic activity of phage MS2, intact bacterial cells *E. coli* 2C 3060(F+), RNA isolated from *E. coli* and phage MS2, and replicative form RNA of phage MS2, arising in the process of replication of this phage on bacterial cells (15—20 min injection of bacterial culture with phage MS2). Studies of the interferonogenic activity of these preparations on the marrow bone cells and peripheral leukocytes of different origin, and in serum of mice revealed that the highest interferonogenic activity was characteristic of double-stranded RNA of phage MS2.

УДК 577—616:576.8.097

РАДИОБИОЛОГИЯ

ИЗУЧЕНИЕ БЛЯШКООБРАЗУЮЩИХ КЛЕТОК В ПЕРИФЕРИЧЕСКОЙ КРОВИ У ОБЛУЧЕННЫХ МОРСКИХ СВИНОК

М. А. Брегадзе

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

Поступила в редакцию 27.7.1977

Показано, что для определения выраженности лучевого поражения морских свинок чувствительным является число бляшкообразующих клеток крови; выявление последних с помощью модифицированного Н. Н. Клемпарской метода Иерна может служить для оценки эффективности лечебных воздействий.

Наличие циркуляции в крови тканевых антигенов [7, 8, 12], образование аутоантител [2, 3, 12, 14, 16, 17] и развитие аутоиммунного процесса в облученном организме [1, 11] играют существенную роль в патогенезе первичной реакции организма на облучение.

В результате прямого повреждающего действия излучения на структуры тканей, наступает распад клеток; продукты этого распада, вследствие одновременного повышения проницаемости сосудов и тканевых барьеров, всасываются в ток крови и лимфы и являются причиной повышения уровня нормальных аутоантител, а затем и появления противотканевых антител, которые связывают эти продукты (т. е. продукты обмена и распада клеток). При любых повреждениях, в ответ на антигенное раздражение продуктами клеточного распада, постепенно формируется аутоиммунная реакция, выражающаяся в накоплении в крови клеток, продуцирующих аутоантитела. При воздействии излучения уровень аутоантител в крови быстро увеличивается, но вместо нормальных, начинают вырабатываться их патологические варианты и клетки, продуцирующие аутоантитела, сами же являются объектом их действия. Угнетающее влияние аутоантител на деятельность клеток и является причиной снижения антимикробной устойчивости у облученных организмов [4].

Свидетельством тяжести лучевого поражения являются снижение веса, сдвиги в периферической крови, угнетающее влияние аутоантител на деятельность клеток тканей и смерть животных [9, 10, 13, 15]. Исходя из этого, для выявления клинических особенностей лучевых поражений морских свинок мы решили изучить в динамике (до и после облучения) изменения показателей крови и аутоиммунной реакции — с помощью определения количества бляшкообразующих клеток в периферической крови среди общего числа кариоцитов.

Опыты проводили на 15 облученных (дозой 728P — на установке РУМ-17, 322P/мин) и 5 необлученных, половозрелых, беспородных морских свинок весом 600—700 г. Все животные находились в одинаковых условиях. Развитие лучевой болезни контролировали по сдвигам в периферической крови, клинической картине, изменению веса и наличием аутоиммунной реакции, путем изучения количества бляшкообразую-

Гематологические показатели морских свинок до и после их облучения (728P)

Таблица 1

Показатели крови	Число животных	До облучения $M \pm m$	Сутки после облучения $M \pm m$				
			1	3	7	9	13
Тромбоциты в тыс. 1 мм^3	15	$302 \pm 14,0$	$316 \pm 24,8$	$191,3 \pm 45,6$	$39,2 \pm 4,1$	$27,1 \pm 0,8$	$19,8 \pm 3,8$
Лейкоциты в тыс. 1 мм^3	"	$15,8 \pm 0,7$	$5,6 \pm 0,8$	$3,2 \pm 0,9$	$2,9 \pm 0,09$	$2,1 \pm 0,7$	$1,6 \pm 0,08$
Ретикулоциты в %	"	$14,3 \pm 0,04$	$12,1 \pm 0,7$	$5,3 \pm 0,1$	$2,8 \pm 0,09$	$2,4 \pm 0,1$	$2,1 \pm 0,1$
Гемоглобин в %	"	$83 \pm 0,55$	$81 \pm 0,4$	$79 \pm 0,07$	$61 \pm 0,77$	$56 \pm 0,5$	$43,1 \pm 0,6$
Эритроциты в млн. 1 мм^3	"	$5,36 \pm 0,08$	$5,40 \pm 0,3$	$4,9 \pm 0,003$	$4,4 \pm 0,08$	$4,0 \pm 0,1$	$3,60 \pm 0,3$

щих аутоантитела клеток и кариоцитов в крови по методу Иерне в модификации Н. Н. Клемпарской [5]. Из вены уха у морских свинок брали кровь и добавляли 5%-ный лимоннокислый натрий (2:1). Из цитратной крови приготавливали препараты: для подсчета бляшек (добавляя физиологический раствор) и для подсчета кариоцитов (добавляя 5%-ную уксусную кислоту). Препараты выдерживали в течение 1 ч при комнатной температуре, а потом помещали на 24 ч в холодильник при температуре 4°C. Число бляшкообразующих клеток — «бляшек» — подсчитывали в 5 полях зрения в разных местах препарата, число ядросодержащих клеток — в параллельной пробе. Затем вычисляли процентное содержание бляшек в крови клеток, образующих аутоантитела. Бляшкообразующие клетки изучали как до облучения, так и на 1, 3, 5, 7, 9, 13 сутки после облучения. На 15 сутки все животные, облученные в дозе 728 P, погибли.

После облучения у всех животных развивалась острая лучевая болезнь. Через час после облучения отмечали малоподвижность и общее заторможенное состояние. Вес подопытных животных резко падал. Максимальное падение веса на 30—40% от исходного наблюдалось на 7—13 день. В продолжении 3—7 дней после облучения у подопытных животных преобладали симптомы поражения желудочно-кишечного тракта и кроветворной системы. При вскрытии животных наблюдались вздутие и истощение кишечника, уменьшение размеров и веса селезенки, кровоизлияния во внутренних органах.

Исследование показало, что после облучения у животных развивалась типичная картина поражения кроветворения с развитием тромбопении, лейкопении и с падением числа ретикулоцитов (табл. 1). Через час после облучения развивался лейкоцитоз, а через 24 ч — лейкопения. На второй день после облучения количество лейкоцитов в периферической крови составляло всего 30—35% от исходного, а на 13 сутки — 9—11%. Снижение количества тромбоцитов до 6—8% наблюдалось уже на 5—9 сутки, а количества ретикулоцитов до 12—15% на 9—13 сутки. Уменьшение количества эритроцитов и % гемоглобина наблюдалось с первых же дней облучения, но снижение эритроцитов до 67—77%, а гемоглобина до 50—55% обнаруживалось на 9—13 сутки.

Кроме количественных изменений, в составе клеток периферической крови у облученных морских свинок имели место и качественные изменения. В течение первых двух дней у животных встречались лимфоциты с деформированными ядрами (пикноз, карнорексис, фрагментоз). В нормальных физиологических условиях в периферической крови животных встречались гранулоциты лишь с 3—5 сегментами. А в периферической крови морских свинок, облученных дозой 728 P, в первый же день после облучения появлялись гранулоциты с высоким числом сегментов. На второй день число патологических высокосегментированных гранулоцитов с 8—10 сегментами возрастало, и уже на 5 день эти высокосегментированные гранулоциты замечались уже в большом количестве — почти 20—30%. Позже, на 7—9 день, появлялись дегенеративные формы клеточных элементов с вакуолизацией ядра и цитоплазмы, наблюдалось разрушение клеток — цитоллиз.

При исследовании периферической крови морских свинок на наличие количества бляшкообразующих аутоантител клеток и кариоцитов, после однократного воздействия рентгеновскими лучами, выявилось четко выраженное образование «бляшек», т. е. растворение собственных эритроцитов вокруг некоторых ядросодержащих клеток (рис. 1), а также увеличение количества бляшкообразующих аутоантител клеток по сравнению с их числом у необлученных животных. У необлученных морских свинок количество бляшкообразующих клеток в

крови составляло менее 0,4—0,6% общего числа кариоцитов. У облученных же в период разгара лучевой болезни (с 5 по 13 сутки) наблюдалось увеличение количества бляшкообразующих аутоантител клеток в периферической крови. Максимум количества бляшек (4,1—4,6%)

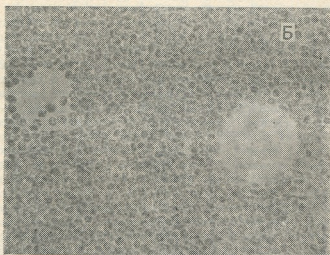
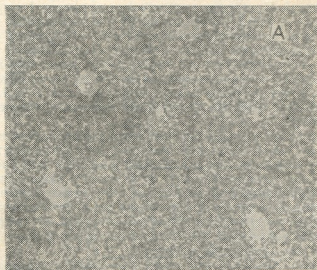


Рис. Бляшкообразующие клетки в преператах из периферической крови морских свинок, облученных дозой 728 Р. В центре бляшки крупное, эксцентрическое ядро. Увеличения: а — об. $\times 20$, ок. $\times 10$; б — об. $\times 40$, ок. $\times 10$

отмечался на 5—9, а минимум — на 3 сутки. Уменьшение количества кариоцитов в крови наблюдалось уже через час после облучения, а максимум снижения — на 7—13 сутки. Полученные результаты обрабатывались с вычислением количества бляшкообразующих клеток (в процентах), а различие достоверности по отношению к необлученной группе живогных определялось статистически по критерию Стьюдента (табл. 2).

Сопоставление экспериментальных данных показало, что у морских свинок, облученных дозой 728 P, изменения в периферической крови выразились в первые же дни после облучения в уменьшении количества тромбоцитов, ретикулоцитов и ядросодержащих клеток и в увеличении клеток, образующих аутоантитела в крови. Нарастание числа бляшкообразующих клеток указывает на большую интенсив-

Таблица 2
Содержание бляшкообразующих клеток в крови животных

Группа	Число животных	Время	Бляшки			Кардиоциты			Содержание бляшек, %	P по отношению к необлученной группе
			Число полей зрениия	Общее число бляшек	Среднее	Число полей зрениия	Общее число ядерных клеток	Среднее		
Необлученные	3	—	20	5,4	0,3	7	504	72	0,4	
Облученные	3	до облучения	28	8,4	0,3	10	760	76	0,4	
"	"	после облучения								
"	"	3 день	36	79,2	2,2	9	189	21	10,4	< 0,2
"	"	5 день	20	92	4,6	6	228	38	12,1	< 0,02
"	"	7 день	24	108	4,5	7	217	31	14,7	< 0,02
"	"	9 день	36	147,6	4,1	10	230	23	17,6	< 0,05
"	"	13 день	29	101,5	3,5	6	126	21	16,6	< 0,05

ность и длительность аутоантигенного раздражения вследствие увеличения интенсивности тканевого распада клеток. Наибольшее число бляшек аутоиммунного локального гемолиза, обнаруживающееся в крови морских свинок, облученных дозой 728 P, совпадает с максимальными морфологическими сдвигами, происходящими в органах и периферической крови. Поэтому, наряду с уменьшением количества кардиоцитов, наиболее чувствительным показателем является увеличение количества «бляшек», по которому можно судить о степени лучевого поражения и использовать его при оценке эффективности лечебных воздействий.

ЛИТЕРАТУРА

1. Иванов А. А., Невинная А. П. Радиобиология, 13, 3, 460—466, 1973.
2. Киселев П. Н., Бузин П. А. Действие ионизирующей радиации на иммунитет, «Медгиз», Л., 1957.
3. Клемпарская Н. Н., Алексеева О. Г., Петров Р. В., Сосова В. Ф. Вопросы инфекции, иммунитета и аллергии при острой лучевой болезни, «Медгиз», М., 1958.
4. Клемпарская Н. Н., Львицына Г. М., Шальнова Г. А. Аллергия и радиация, «Медгиз», М., 1968.
5. Клемпарская Н. Н. Ж. микробиологии, эпидемиологии и иммунологии, 8, 18—21, 1969.
6. Аутоантитела облученного организма (под редакцией Клемпарской Н. Н.), Атомиздат, М., 1972.
7. Кашкин К. П., Александрова С. В. Бюлл. exper. биол. и мед., 10, 62, 57—58, 1966.
8. Невинная А. П., Клемпарская Н. Н., Иванов А. А. Радиобиология, 15, 1, 66—68, 1975.



9. Николаев А. И., Алферова, В. Б., Розгон М. И. Ж. микробиологии, эпидемиологии и иммунологии, 6, 126—130, 1968.
10. Николаев А. И., Розгон М. И., Сафаева И. Б., Хакимова М. С., Гарипова Ф. Ш. Радиобиология, 8, 6, 933—934, 1968.
11. Смирнов К. В., Шиходыров В. В. В сб.: Основы радиационной биологии, «Наука», М., 186—237, 1964.
12. Петров Р. В. Иммунология острого лучевого поражения. Атомиздат, М., 1962.
13. Петров Р. В., Ильина Л. И. Биол. эксперим. биол. и мед., 8, 20, 44, 1957.
14. Петров Р. В., Зарецкая Ю. М. Трансплантационный иммунитет и радиационные химеры, Атомиздат, М., 1965.
15. Петров Р. В., Зарецкая Ю. М. Радиационная иммунология и трансплантация, Атомиздат, М., 1970.
16. Шальнова Г. А., Уланова А. М. В кн.: Мат. V научно-практической конференции по радиационной гигиене, Л., 1967, 182.
17. Allegretti N. Intern. J. Rad. Biol., 4, 4, 1962, 363.

დასხივებული ზღვის გოჭის პერიფერიულ სისხლში
ბალთისწარმომქმნელ უჯრედთა შესწავლა

ა. ბრეგაძე

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

რეზიუმე

დასხივებული ზღვის გოჭის პერიფერიულ სისხლში ბალთისწარმომქმნელ უჯრედთა რიცხვის დინამიკაში შესწავლამ გვიჩვენა, რომ ამ უჯრედთა რაოდენობის განსაზღვრა შეიძლება ჩაითვალოს მგრძობიარე მაჩვენებლად, როგორც სხივური დაზიანების, ისე სამკურნალო საშუალებათა ეფექტურობის დასადგენად.

STUDY OF THE PLAQUE-FORMING CELLS IN THE PERIPHERAL
BLOOD OF THE IRRADIATED GUINEA PIG

M. A. BREGADZE

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

Summary

Study in dynamics of the changes in the number of plaque-forming cells in the blood of the irradiated guinea pigs has revealed that the number of plaque-forming cells may be a sensitive index for the determination of pronounced radiation injury, as well as for the estimation of effectiveness of treatment.

УДК 547.96

БИОФИЗИКА

ВЛИЯНИЕ ДОДЕЦИЛСУЛЬФАТА НАТРИЯ НА α -АКТИНИН СКЕЛЕТНОЙ МЫШЦЫ КРОЛИКА

М. Ш. Симонидзе, Н. Ш. Надирашвили, М. Д. Шустина,
В. Я. Фурман, Р. М. Купатадзе, Ф. О. Шрайбман,
М. М. Заалишвили

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

Поступила в редакцию 15.7.1977

Методом аналитического ультрацентрифугирования показано, что при действии додецилсульфата натрия (ДСН) на α -актинин коэффициент седиментации белка уменьшается почти в два раза, α -актинин, обработанный этим детергентом, теряет биологическую активность, способность скреплять Ф-актиновые филаменты. Денатурация, вызванная действием ДСН, является необратимой.

Результаты исследований, полученные в последние годы, свидетельствуют о том, что α -актинин оказывает существенное влияние на Mg^{++} -модифицированную АТФазную активность и суперпреципитацию (СПП) реконструированного актомиозинового комплекса. В настоящее время явление СПП интерпретируется как модель мышечного сокращения *in vitro*. Поэтому изучение взаимодействия α -актинина с актомиозиновым комплексом имеет чрезвычайно важное значение. Д. Голл и др. [5] ультрацентрифугированием показали, что α -актинин не образует стабильного комплекса с миозином, Г-актином, тропомиозином, однако прочно соединяется с Ф-актином и обуславливает поперечное связывание актиновых филаментов. В результате исследования условий образования комплекса α -актинин-актин в зависимости от ионной силы среды нами было показано, что оптимум образования такого комплекса наблюдается при ионной силе 0,1 [1]. При изучении гидродинамического поведения α -актинина было показано, что молекулярный вес чистого препарата в растворах низкой ионной силы и в присутствии 0,1 М КСl равняется $1,8 \cdot 10^5$ дальтон. Было установлено также, что α -актинин является вытянутой частицей, соотношение осей которой равно 18 в растворе 1 мМ $NaHCO_3$ и 13 в растворе 1 мМ $NaHCO_3 + 0,1$ М КСl [3].

Как известно, одним из методов изучения структуры высоких порядков биологических макромолекул является электрофорез на акриламидном геле. С помощью данного метода можно выяснить субъединичное строение белка и в определенных условиях разделить не только субъединицы, но и его пептидный материал [7]. Было показано, что подвижности α -актинина в полиакриламидном геле в трис-глициновом буфере и фосфатном буфере, содержащем 0,1% ДСН, различны. В ДСН-полиакриламидном геле его молекулярный вес соответствует 90 000 дальтон, а в трис-глициновом буфере 180 000 дальтон [4].

Из вышесказанного становится очевидным, что основной задачей при изучении первичной структуры α -актинина является выяснение природы субъединиц и их разделение.

В настоящей работе представлены результаты исследования действия анионного детергента ДСН на мышечный белок α -актинин.

Препарат α -актинина получали из скелетных мышц кролика по несколько видоизмененному методу Робсона и сотр. [9]. Глобулярный белок актин получали по методу Риса и Янга [6], включая очистку с помощью гель-фильтрации на сефадексе G-200. Гомогенность препаратов проверяли методом аналитического диск-электрофореза на полиакриламидном геле. Концентрации белков определяли с помощью интерферометра ИТР-2. Вязкость растворов белка измеряли на капиллярном вискозиметре Освальда при 17°C. Седиментационный анализ препаратов α -актинина проводили на аналитической ультрацентрифу-

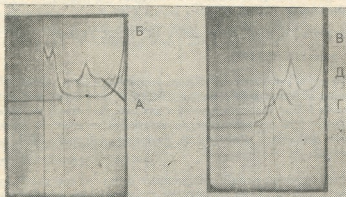


Рис. 1. Седиментограммы α -актинина ($n=49600$ об/мин, $t=20^\circ\text{C}$, фазовый угол 50° , концентрация белка $2,0$ мг/мл, среда 1 М NaHCO_3): а — нативный белок; б, в, г, д — белок, обработанный 2, 0,7, 0,3, 0,1% ДСН соответственно

ге УЦА-9. Инкубация препаратов α -актинина в ДСН велась при комнатной температуре. ДСН удаляли диализом или пропусканием белкового раствора через колонку с дауэксом 1×2 . Для этой цели использовали методику, предложенную в работе [10].

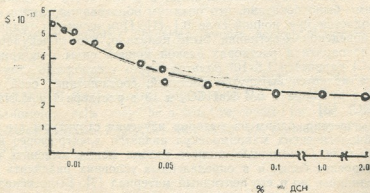


Рис. 2. Изменение коэффициента седиментации α -актинина

Для исследования действия ДСН на α -актинин методом седиментационного анализа, белок инкубировали с различным количеством ДСН. Время инкубации составляло 15—17 часов при температуре 22°C . Были также поставлены опыты при уменьшении времени инку-

бации (до 3 часов) и повышении температуры (до 37°). Полученные результаты суммировали (рис. 1, 2). С увеличением концентрации ДСН коэффициент седиментации уменьшается. 0,1% ДСН является пороговой концентрацией, при которой коэффициент седиментации уменьшается до 2,65 S. Дальнейшее увеличение концентрации ДСН (до 2%) не влияет на значение коэффициента седиментации.

В ранее проведенной работе по изучению связей, обуславливающих образование комплекса α -актинин-актин, мы пришли к выводу, что трипсин действует как на взаимодействие актина с α -актинином, так и на α -актинин, в результате чего последний теряет свою активность [2]. Такой же вывод в отношении действия трипсина на α -актинин был сделан в работе Г. Холмса с сотрудниками [6]. В этой работе на основании данных седиментационного анализа авторы пришли к выводу, что в молекуле α -актинина нет таких лабильных мест, как это имеется в молекуле миозина и поэтому трипсин не расщепляет α -актинин на большие фрагменты. Он только постепенно отщепляет фрагменты, которые не осаждаются и не видны на седиментограммах. Такой процесс приводит к уменьшению коэффициента седиментации.

По отношению действия ДСН, постепенное уменьшение коэффициента седиментации не может быть следствием отщепления каких-нибудь фрагментов от молекул α -актинина. Результаты можно объяснить

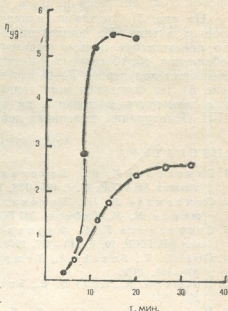


Рис. 3. Кинетика полимеризации актина:
—○—○— Г-Ф переход актина;
—●—●— Г-Ф переход актина + α -актинин

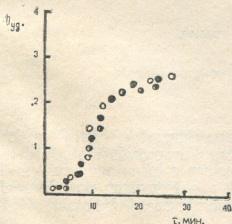


Рис. 4. Кинетика полимеризации актина:
—○—○— Г-Ф переход актина + α -актинин, инкубированный в 0,1% ДСН;
—●—●— Г-Ф переход актина + α -актинин, инкубированный в 0,1% ДСН и отдиализированный;
—⊖—⊖— Г-Ф переход актина + α -актинин, инкубированный в 0,1% ДСН и пропущенный через дауэкс

нить только сопоставлением данных по ДСН-электрофорезу [4] с результатами ультрацентрифугирования. На основании этого сравнения



можно полагать, что при действии ДСН на α -актинин происходят такие изменения молекулы (структурные, конформационные и др.), которые приводят к уменьшению коэффициента седиментации и, в конечном счете, разделению молекулы на две субъединицы. Не исключено, что в случае изменения условий инкубации, пороговой концентрацией ДСН окажется не 0,1%, а меньшая величина.

На рис. 3, 4 показано влияние препаратов α -актинина, на Г—Ф переход актина. Из приведенных экспериментальных данных видно, что кинетические кривые полимеризации актина не изменяются при добавлении обработанного α -актинина, тогда как нативный α -актинин уменьшает полупериод Г—Ф перехода актина и увеличивает вязкость (рис. 3). На основании этих данных можно заключить, что биологическая активность α -актинина не восстанавливается после удаления ДСН. Денатурация, вызванная действием ДСН, является необратимой.

ЛИТЕРАТУРА

1. Симоидзе М. Ш., Бокочадзе Н. Н., Заалишвили М. М. Сообщения АН ГССР, 77, 1, 185—188, 1975.
2. Симоидзе М. Ш., Бокочадзе Н. Н., Фурман В. Я., Заалишвили М. М. Сообщения АН ГССР, 70, 2, 465—468, 1973.
3. Стефаненко Г. А., Фурман В. Я., Заалишвили М. М. Сообщения АН ГССР, 70, 3, 713—717, 1973.
4. Goll D. E., Suzuki A., Temple J., Holmes G. R. J. Mol. Biol., 67, 469—488, 1972.
5. Holmes G. R., Goll D. E., Suzuki A. Biochim. Biophys. Acta, 253, 240—253, 1971.
6. Holmes G. R., Goll D. E., Suzuki A., Robson R. M., Stromer M. H. Biochim. Biophys. Acta, 446, 2, 445—456, 1976.
7. Furthmayer H., Timpl R. Annal. Biochem., 41, 2, 510—516, 1971.
8. Rees M. K., Young M. J. Biol. Chem., 242, 19, 4449—4458, 1967.
9. Robson R. M., Goll D. E., Arakawa N., Stromer M. H. Biochim. Biophys. Acta, 200, 296—318, 1970.
10. Weber K., Kuter D. K. J. Biol. Chem., 246, 14, 4504—4509, 1971.

ნატრიუმის დოდეცილსულფატის მოქმედება უბინაური კურღლის ცილა α -აქტინინზე

მ. სიმონიძე, ნ. ნადირაშვილი, მ. შუსტინა, ვ. ფურმანი, რ. კუპატაძე, თ. შარიბანი, მ. ჯალაღონი

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

რეზიუმე

ნაჩვენებია, რომ ნატრიუმის დოდეცილსულფატის მოქმედება α -აქტინინზე იწვევს ამ უკანასკნელის სედიმენტაციის კოეფიციენტის შემცირებას დაახლოებით ორჯერ. α -აქტინინი დეტერგენტით დამუშავებული კარგავს ფ-აქტინის ფილამენტების შეერთების უნარს, ე. ი. ბიოლოგიურ აქტივობას. α -აქტინინის დენატურაცია, ნატრიუმის დოდეცილსულფატის მოქმედებით გამოწვეული, შეუქცევადია.

EFFECT OF SODIUM DODECYLSULPHATE ON α -ACTININ FROM
RABBIT SKELETAL MUSCLE



M. Sh. SIMONIDZE, N. Sh. NADIRASHVILI, M. D. SHUSTINA, V. Ya. FURMAN,
R. M. KUPATADZE, F. O. SHRAMAN, M. M. ZAALISHVILI

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

S u m m a r y

The sedimentation coefficient of α -actinin treated by SDS was shown to decrease almost twice.

α -actinin treated by the detergent loses its biological activity—ability to cross-link F-actin filaments.

Protein denaturation by SDS is irreversible.

ХРОНИКА

СИМПОЗИУМ «НЕЙРОФИЗИОЛОГИЧЕСКИЕ МЕХАНИЗМЫ ЭПИЛЕПСИИ»

Всеобщий симпозиум «Нейрофизиологические механизмы эпилепсии» был создан по инициативе Советского Национального комитета Международной организации по изучению мозга (ИБРО) и проведен в Тбилиси 10—14 октября 1978 года. Организация симпозиума была поручена академику АН ГССР В. М. Окуджава. На симпозиуме были обсуждены следующие основные вопросы: нейронная организация эпилептической активности, синаптические процессы эпилептизации нейрона, механизмы генерализации эпилептической активности, влияние различных функциональных состояний на эпилептическую активность мозга.

Всего было заслушано и обсуждено 33 доклада, представленных ведущими специалистами Москвы, Ленинграда, Тбилиси, Еревана, Читы, Свердловска. Наряду с советскими учеными, в работе симпозиума участвовали крупнейшие эпилептологи ряда зарубежных стран — Е. Майковски (Польша), Ф. Клингберг (ГДР), Р. Хасслер, Д. Люкс, К. Нитш (ФРГ), Ч.-Л. Ли, А. А. Уорд, Р. Рейсин (США) и Ю. Вада (Канада).

Большинство докладов было посвящено нитным клеточным механизмам эпилептической активности. К этой группе относятся сообщения Ч.-Л. Ли с соавт., А. А. Уорда, А. Гутмана, М. Б. Рехтмана с соавт., В. Г. Скребицкого и И. Н. Шароновой, Р. Рейсина и др. В. М. Окуджава представил новейшие данные о роли процессов торможения в эпилептической активности. Вопросы генерализации эпилептической активности касались доклады П. М. Сараджишвили с соавт., С. А. Чипашвили и В. М. Окуджава, С. М. Осовца с соавт. и др.

Некоторым частным вопросам фармакологии эпилептической активности были посвящены доклады И. Кэстнер и Ф. Клингберга, К. Нитш, Э. Ф. Лаврецкой, Э. Б. Арушяна и Р. М. Авзяна.

Прикладные вопросы эпилептологии были затронуты А. А. Меграбяном и С. Л. Авакяном, Р. Хасслером, Т. С. Степановой и К. В. Грачевым и др.

Отдельное заседание симпозиума было целиком посвящено проблеме связи эпилептической активности с циклом бодрствование-сон. По этому вопросу выступили Т. К. Иоселиани, А. М. Вейн с соавт., Т. Н. Ониани с соавт., Ш. И. Бибилейшвили и группа соавторов покойного профессора Д. Г. Шефера.

На заключительном заседании симпозиума выступил проф. Е. Майковски, председатель Польского отделения Европейской Лиги Против Эпилепсии. Выступивший отметил чрезвычайно высокий научный и организационный уровень тбилисского симпозиума и высказал пожелание подобные совещания, с широким привлечением как советских, так и зарубежных ученых, проводить в г. Тбилиси регулярно — раз в три, четыре года.

А. Г. Корели

УКАЗАТЕЛЬ АВТОРОВ ЧЕТВЕРТОГО ТОМА

- Абакелия Ц. И. — № 3, 238
Абашидзе Л. Я. — № 6, 522
Абзианидзе Е. В. — № 5, 389
Абулашвили И. Г. — № 4, 376; № 5, 457
Адамия Т. Э. — № 3, 206
Адиқашвили Д. Н. — № 2, 107
Алавидзе З. И. — № 2, 153; № 4, 350;
№ 6, 557
Алексидзе Н. Г. — № 1, 76
Авели Д. М. — № 4, 382
Ахалқаци Р. Г. — № 1, 76
- Бахтадзе Г. И. — № 3, 223
Бекая Г. Л. — № 2, 101, 192
Белонваненко Н. И. — № 3, 214
Бениашвили Д. Ш. — № 4, 308
Берадзе Г. Г. — № 2, 101
Бирқадзе Т. В. — № 6, 557
Бобохидзе Е. А. — № 4, 327
Болдырев А. А. — № 5, 435
Бочоришвили Г. Г. — № 6, 485
Брегадзе М. А. — № 6, 563
Бужия Т. Ш. — № 3, 238
Бурджанадзе Т. В. — № 2, 171
Бурчак-Абрамович Н. И. — № 6, 529
- Ванинский А. Я. — № 6, 485
- Габашвили В. М. — № 1, 95
Габуния У. А. — № 1, 31
Гамбашидзе М. Г. — № 1, 76
Гачечиладзе Н. А. — № 1, 57; № 3, 282
Гвамичава Н. Э. — № 2, 134
Гвилава М. Ш. — № 6, 542
Георгадзе И. А. — № 4, 357
Георгадзе И. И. — № 6, 557
Гюргобнани Н. М. — № 6, 493
Глейзер Ю. А. — № 6, 485
Гогиашвили Л. Е. — № 2, 115
Гогичайшвили В. А. — № 5, 417
Гогоберидзе М. К. — № 1, 79
Гоголи А. А. — № 4, 322
Гокиели Л. Б. — № 1, 31
Голованова Т. А. — № 4, 357
Голубев В. Н. — № 5, 449
Гольденберг З. В. — № 3, 275
Гонджилашвили Я. И. — № 4, 376; № 5,
457
- Горғидзе А. Д. — № 3, 275
Гордезиани М. Ш. — № 4, 327
Григорашвили Г. З. — № 4, 322
Григорашвили З. Г. — № 4, 322
Григорян Ю. А. — № 6, 516
Гугушвили М. Л. — № 2, 107
Гулисашвили В. З. — № 5, 476
- Джавахишвили Н. А. — № 2, 115
Джавришвили Т. Д. — № 4, 293
Джавдиери К. М. — № 1, 65
Джинджолия Ш. Р. — № 3, 232
Джинчвелашвили Б. Г. — № 5, 443
Диасамидзе И. В. — № 2, 115
Долидзе Д. А. — № 3, 247, № 6, 536
Долидзе Л. Б. — № 1, 31
Долидзе Н. И. — № 1, 76
Дурмишидзе С. В. — № 4, 327
- Екимова Л. П. — № 6, 503
- Жгенти Л. П. — № 5, 412
- Заалишвили М. М. — № 1, 57; № 3, 282;
№ 6, 569
Захарова Н. Л. — № 4, 322
Зильберфарб Б. С. — № 3, 197
- Иванишвили М. А. — № 5, 478
Иобадзе М. С. — № 1, 65
- Карселадзе М. В. — № 4, 368
Касимов А. Э. — № 1, 5
Каулен Д. Р. — № 4, 357
Қацитадзе К. П. — № 1, 79; № 3, 260
Кашия И. И. — № 5, 417
Кезели Т. А. — № 2, 134
Керкадзе Н. Д. — № 6, 542
Кецховели Э. Н. — № 2, 138; № 4, 341
Кикнадзе Н. Р. — № 4, 299
Кишани В. А. — № 2, 185
Клейн Е. Э. — № 6, 509
Когновицкая А. И. — № 6, 557
Кокосадзе Т. Р. — № 3, 268
Комахидзе М. Э. — № 2, 115
Кометиани З. П. — № 2, 123
Кометиани П. А. — № 2, 190
Корели А. Г. — № 2, 192; № 6, 575

Крыжановский О. Л. — № 2, 189
Купатадзе Р. М. — № 6, 569
Курдованидзе М. Л. — № 2, 123

Ларионова Н. Г. — № 3, 238
Латария К. Д. — № 3, 206
Лежава Т. А. — № 2, 162
Ломидзе Л. Г. — № 1, 57; № 3, 282
Ломтатидзе З. Ш. — № 4, 382

Магалтадзе В. А. — № 5, 443
Малолетнев В. И. — № 2, 101
Мамисашвили В. А. — № 5, 480
Мачавариани Г. А. — № 5, 464
Месхи А. В. — № 1, 79
Мжаванадзе Д. Ш. — № 5, 399
Мирианашвили Е. В. — № 6, 550
Мирианашвили Е. И. — № 5, 468
Митагвария Н. П. — № 3, 206
Моянова С. Г. — № 2, 180
Мумладзе Л. М. — № 6, 550
Мурицхваладзе Г. Н. — № 5, 428
Мусеридзе Д. П. — № 5, 472
Мусхелишвили Т. А. — № 1, 83
Мушкудиани И. С. — № 5, 428
Мысякин Е. Б. — № 4, 357

Надирашвили Н. Ш. — № 6, 569
Натадзе Т. Г. — № 2, 185
Негмедзянов В. А. — № 1, 83

Ониашвили Н. И. — № 4, 335
Орлова Т. Г. — № 6, 557

Патарая Д. Т. — № 6, 536
Патарая К. Н. — № 4, 335
Пилнев С. А. — № 2, 146
Пиранишвили Н. С. — № 2, 134
Пирцхалайшвили М. Ш. — № 3, 214

Ригвава С. А. — № 4, 357

Сараджева М. А. — № 2, 138
Сараджишвили П. М. — № 1, 95
Сахвадзе Л. И. — № 6, 542
Сванидзе М. М. — № 5, 399
Симонидзе М. Ш. — № 6, 569
Сичинава Ш. Г. — № 1, 38

Табагари С. И. — № 6, 516
Тарасашвили К. М. — № 2, 134

Тарашвили Г. А. — № 4, 363
Ткачук В. А. — № 5, 435
Тотибадзе Н. К. — № 3, 214
Туманишвили Г. Д. — № 1, 65; № 5, 417
Турманидзе Ц. С. — № 3, 247; № 6, 536

Урушадзе М. Г. — № 6, 550
Урушадзе Т. Ф. — № 5, 476

Фурман В. Я. — № 6, 569

Ханаева З. С. — № 1, 12
Харадзе Н. М. — № 4, 322
Хачидзе О. Т. — № 3, 275
Хмаладзе Е. В. — № 2, 162
Хорунжева Ю. А. — № 1, 24
Хучуа А. В. — № 4, 315

Цагарели З. Г. — № 1, 31
Цаишвили Ц. С. — № 5, 472
Цакадзе Л. Г. — № 2, 123
Циклаури Г. Ч. — № 2, 129
Цхакая К. Е. — № 5, 468

Чанишвили Т. Г. — № 1, 48; № 2, 153;
№ 4, 350; № 6, 557

Чежия Л. С. — № 4, 322

Челидзе П. В. — № 1, 65; № 3, 232; № 6,
493

Чиджавадзе Э. О. № 5, 389
Чиквиладзе Д. Н. — № 1, 88

Чиракадзе И. Г. — № 1, 48

Чичуа А. И. — № 5, 443

Чоговадзе И. С. — № 6, 509

Чхенкели С. А. — № 5, 406

Чхиквишвили М. В. — № 6, 550

Чхолария Н. Д. — № 3, 238

Шабарова З. А. — № 3, 254
Шавердашвили Р. С. — № 3, 268
Шаламберидзе М. В. — № 3, 254
Шатинина Н. Н. — № 6, 503
Шеварднадзе Л. М. — № 4, 368
Шония Н. Б. — № 2, 107
Шрайбман Ф. О. — № 6, 569
Шустина М. Д. — № 6, 569
Шутко А. Н. — № 6, 503

Эбралидзе А. Ш. — № 6, 516

К СВЕДЕНИЮ АВТОРОВ

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

2. **Объём рукописи экспериментальных и итоговых работ**, включая таблицы, рисунки, подписи к рисункам, список литературы и резюме на грузинском и английском языках (не более одной страницы машинописи на каждом языке), не должен превышать 12 страниц машинописного текста, напечатанного через 2 интервала и полем 3 см с левой стороны. К рукописи может быть приложено не более 5 рисунков. **Объём обзорной статьи—24 страницы, краткого сообщения** со списком литературы и кратким резюме на английском языке (не более 6 строк)—до 4 страниц машинописи. Краткие сообщения можно иллюстрировать 1—2 рисунками.

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

12. Авторы получают бесплатно 12 отдельных оттисков.

б. 54/19



Цена 70 коп.

76 204