

BIOL
1979
N1



ISSN-0321-1665

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

92

ბიოლოგიის
სერია
СЕРИЯ
БИОЛОГИЧЕСКАЯ

1979 N1

თბილისი
ТБИЛИСИ
TBILISI

3020
ТОМ
VOL.

5

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

ბიოლოგიის სერია СЕРИЯ БИОЛОГИЧЕСКАЯ

ტომი 5, № 1
Том

ჟურნალი დაარსებულია 1975 წელს
Журнал основан в 1975 году
გამოდის წელიწადში 6-ჯერ
Выходит 6 раз в год

16319

სარედაქციო კოლეგია:

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

ლ. გაბუნია, ს. ღურშიშიძე, მ. ზაალიშვილი, გ. თუმანიშვილი, ი. თუმანიშვილი,
გ. კანდელაკი, ნ. კეცხოველი, კ. ნადარეიშვილი, პ. კომეთიანი, ბ. უურაშვილი,
ნ. ძიძიშვილი, თ. ჭანიშვილი, შ. ჭანიშვილი, ნ. ჭავჭავაძე
პასუხისმგებელი მდივანი ს. ლაბაძე

РЕДАКЦИОННАЯ КОЛЛЕГИЯ:

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

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

EDITORIAL BOARD:

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

СОДЕРЖАНИЕ — შიგნაბარბი — CONTENTS

И. М. Айвазашвили, А. Н. Зиракадзе, Э. А. Карели. Кратковременная память щенков, перенесших интранатальную острую гипоксию, в ситогенезе	5
ი. აივაზაშვილი, ა. ზირაკაძე, ე. კარელი. ძალის ლეველებში მეხსიერების ონტოგენეზი „ინტრანატალური“ მწვავე ჰიპოქსიის გადატანის შემდეგ	
I. M. Aivazashvili, A. N. Zirakadze, E. A. Kareli. Ontogenesis of short-term memory of puppies following "intranatal" acute hypoxia	
Н. К. Дихаминджия, Н. Ш. Чавчанидзе, Г. П. Москалева, В. И. Гудим, К. И. Канделаки, Г. Н. Берадзе. Зависимость эффекта сыворотки крови на миграцию лейкоцитов в лейкоцитарной культуре от ее эритропоэзстимулирующей и ингибирующей активности	12
ნ. კ. დიხამინჯია, ნ. შ. ჩავეჩანიძე, გ. მოსკალეოვა, ვ. გუდუციანი, კ. კანდელაკი. ლეიკოციტურ კულტურაში ერიტროციტების მიგრაციაზე სისხლის შრატის გავლენის დამოკიდებულება იმპულსური, თუ როგორია შრატის ერიტროპოეზის მასტიმულირებელი და დამორგუნველი მოქმედება	
N. K. Dikhaminjia, N. Sh. Chavchanidze, G. P. Moskaleva, V. I. Gudim, K. I. Kandelaki, G. N. Beradze. Dependence of blood serum effect of leucocyte migration in leucocytic culture upon its erythropoiesis stimulating and inhibiting activities	
В. Б. Парцвания, Н. Н. Тавкхелидзе. Динамика привыкания в нейронах моллюска	19
ბ. ფარცვანიძე, ნ. თავხელიძე. მიწვევის დინამიკა მოლუსკის ნეიტრონებში	
V. B. Partsvania, N. N. Tavkhelidze. Dynamics of habituation in molluscan neurons	
Н. С. Дурмишидзе. Функциональная морфология легких у больных митральным стенозом после гепаринотерапии	26
ნ. ს. დურმიშიძე. მიტრალური სტენოზით დაავადებულთა ფალტის ფუნქციური მორფოლოგია ჰეპარინოთერაპიის შემდეგ	
N. S. Durmishidze. Functional morphology of lungs with mitral stenosis after heparine therapy of patients	
Т. А. Джаляшвили, В. Н. Чикваидзе. Распределение активности 3',5'-АМФ-фосфодиэстеразы (ФДЭ) в мозговой ткани и изучение влияния психотропных веществ на ее активность	34
თ. ჯალიაშვილი, ვ. ჩიკვაიძე. თავის ტვინში 3',5'-აშფ-ფოსფოდიესტერაზის (ფდფ) აქტივობის განაწილება და ფსიქოტროპული ნივთიერებების გავლენა	
T. A. Jaliashvili, V. N. Chikvaidze. The distribution of 3',5'-AMP-phosphodiesterase (PDE) activity in the brain tissue and the influence of psychotropic drugs on its activity	
Д. Г. Микеладзе, Д. Г. Качаравა. Кинетические свойства Mg ²⁺ , Ca ²⁺ -АТФазы микросом и его активирование экзогенной 3',5'-АМФ зависимой протеинкиназой	40
დ. მიქელაძე, დ. კაჭარავა. მეკროსომული Mg ²⁺ , Ca ²⁺ -აშფ-აზის კინეტიკური თვისებები და მისი აქტივირება 3',5'-აშფ დამოკიდებული პროტეინკინაზით	
D. G. Mikeladze, D. G. Kacharava. The kinetic properties of microsomal Mg ²⁺ , Ca ²⁺ -ATPase and its activation by exogenous cyclic AMP-dependent protein kinase	
А. И. Суладзе. О взаимоотношениях между организмами и средой их обитания из экосистемы раннепонтийского (Евпаторийского) бассейна черноморской области	48
ა. სულაძე. შვეი ზღვის რაიონის ადრეპონტიური (ევპატორიის) აუზის ეკოსისტემის ორგანიზმებისა და მათი საარსებო გარემოს ურთიერთობათა შესახებ	
A. I. Suladze. On the interrelationships between the organisms from the ecosystem of early pontian Eupatorian basin of the Black Sea region and their environment	

საქართველოს საბუნების
მეცნიერებათა აკადემიის გამომცემლობა



Л. И. Сахвадзе, М. И. Имнадзе, Л. Г. Картвелишвили. Тиюновые бактерии из термальных источников Грузии
 ლ. სახვაძე, მ. იმნაძე, ლ. კართველიშვილი. თბო ბაქტერიების გაკრებილობები ტერმალური წყლებში

L. I. Sakhvadze, M. I. Imnadze, L. L. Kartvelishvili. Thionic bacteria from thermal springs of Georgia 60

К. К. Гачечиладзе, Т. К. Патаридзе, Т. Г. Чанишвили, Н. Ш. Баларджишвили, И. А. Георгадзе. Распределение специфических антител в различных фракциях антифаговых сывороток

კ. კ. გაჩეჩილაძე, თ. პატარიძე, თ. ჩანიშვილი, ნ. შ. ბალარჯიშვილი, ი. ა. გეორგაძე. ანტიფაგური სერატების ფრაქციებში სპეციფიური ანტისტრუქტურების განაწილება

K. K. Gachechiladze, T. K. Pataridze, T. G. Chanishvili, N. Sh. Balardzhishvili, I. A. Georgadze. Distribution of specific antibodies in the different fractions of the antiphage sera 68

Н. Е. Енукидзе. Кривые дифференциальной емкости ртутного электрода в водных растворах нативной ДНК

ნ. ე. ენუკიძე. ვერცხლისწყლის ელექტროდის დიფერენციალური ტევადობის მრუდები ნატურული მდნ-ის წყალხსნარებში

N. E. Enukidze. Differential capacity curves of mercury electrode in DNA solution 75

Г. В. Микадзе, Н. И. Гогнадзе, М. М. Заалишвили. Влияние протеина М на сократительные свойства миозина В и синтетического актомиозина с разными соотношениями миозин/актин

გ. მ. მიკაძე, ნ. გოგნაძე, მ. ზაალიშვილი. პროტეინ M-ის გავლენა მიოზინ B-ს და სინთეზური აქტომიოზინის შეყუშვადადობაზე მიოზინ/აქტინის სხვადასხვა შეფარდებისას

G. V. Mikadze, N. I. Gognadze, M. M. Zaalishvili. The influence of protein M on contractile properties of myosin B and synthetic actomyosin at different ratios of myosin/actin 82

М. К. Бабунашвили, Б. С. Зильберфарб. Биологические основы модели гетеротрофной клетки

მ. კ. ბაბუნაშვილი, ბ. ს. ზილბერფარბი. პეტეოტროფული უჯრედის მოდელის ბიოლოგიური საფუძვლები

M. K. Babunashvili, B. S. Zilberfarb. Biological basis of heterotrophic cell model 89

Г. И. Мосиашвили, Н. В. Шенгелия. Влияние некоторых видов микобактерий на рост и развитие черенков виноградной лозы

გ. ი. მოსიაშვილი, ნ. შენგელია. მიკობაქტერიის გვარის ზოგიერთი წარმომადგენლის მოქმედება ვაზის ულოტების ზრდა-ვანვითარებაზე

G. I. Mosiashvili, N. V. Shengelia. The influence of certain mycobacteria species on the growth of grape-vine 93

Хроника
 კრონიკა
 Chronicle
 Т. Ф. Урушадзе. Всесоюзное совещание «Методы почвенно-биогеоценологических исследований»
 Т. А. Джалашвили, Т. Г. Гаришвили. На XII конгрессе ФЕБО 95

УДК 612.827.612.143

ФИЗИОЛОГИЯ ЧЕЛОВЕКА И ЖИВОТНЫХ

КРАТКОВРЕМЕННАЯ ПАМЯТЬ ЩЕНКОВ, ПЕРЕНЕСШИХ ИНТРАНАТАЛЬНУЮ ОСТРУЮ ГИПОКСИЮ, В ОНТОГЕНЕЗЕ

И. М. Айвазшвили, А. Н. Зиракадзе, Э. А. Карели

*Институт физиологии им. И. С. Бериташвили АН ГССР, Тбилиси
НИИ перинатальной медицины, акушерства и гинекологии МЗ ГССР, Тбилиси*

Поступила в редакцию 26.7.1977

На щенках, подвергнутых «интранатальной» дозированной механической травме в области головы, изучалась кратковременная память на натуральный условный сигнал. Опыты проводились в условиях свободного поведения. Кратковременная память у щенков выявлялась методом отсроченных реакций. Эксперименты показали, что «интранатальная травма» головки плода обуславливает у щенков значительный и продолжительный дефицит в механизме формирования и хранения следов кратковременной памяти. В результате онтогенетического роста и периодической тренировки функция памяти у щенков постепенно улучшается, однако как по количеству правильных решений предъявляемых задач, так и по длительности хранения следов кратковременной памяти «травмированные» щенки всегда значительно отстают от интактных.

Интранатальная гипоксия плода продолжает оставаться центральной проблемой перинатальной медицины, как одна из наиболее частых и серьезных по своим последствиям патология родов [8].

Установлено, что «интранатальная травма» плода сопровождается нарушением мозгового кровообращения, повышением внутричерепного давления и болевой реакцией. Последние и являются главными причинами психических и нервных отклонений, возникающих в процессе онтогенетического развития [11]. Существующие методы профилактики и лечения патологических последствий гипоксии еще не удовлетворяют наших требований, что диктует необходимость дальнейшего изучения этой проблемы, в том числе и на животных моделях. В результате экспериментов, проведенных на крысах, кошках, собаках и обезьянах, подвергнутых совместимой с жизнью интранатальной дозированной механической травме, удалось сравнительно глубже и многосторонне исследовать ранние и отдаленные посттравматические изменения функций и структуры центральной нервной системы [2, 3, 4, 5, 6, 8]. Однако внимание исследователей до последнего времени было фиксировано главным образом на морфологических и нейрофизиологических изменениях центральной нервной системы животных при разных случаях интранатальной гипоксии плода [10, 11, 12]. Что же касается влияния «травмы» на высшую нервную деятельность, в частности на индивидуальную память животных, то несмотря на ее чрезвычайную актуальность, она не была еще предметом специального исследования. Имеются лишь единичные работы, которые показывают, что при указанной выше патологии у животных наблюдаются расстройства общего поведения и условнорефлекторной деятельности [9, 10].

Целью наших экспериментов было исследование влияния интранатальной гипоксии плода на формирование и протекание кратковременной памяти у щенков на разных стадиях постнатального онтогенеза.

МЕТОДИКА

Опыты ставились на 6 щенках одного помета. Эксперимент максимально приближался к условиям родового травматизма. У беременной самки под местной анестезией кесаревым сечением были извлечены 3 плода, которые, оставаясь интактными, служили контролем; остальным 3 наносилась «травма» внутриматочно 20-секундным дозированным сжатием головки с интервалами в 20 с. Общая продолжительность нанесения травмы составляла 3 мин, после чего плод извлекали из матки и выхаживали в специальных условиях.

Кратковременная память у «травмированных» и контрольных щенков изучалась в возрасте 3 месяцев на натуральный условный звуковой сигнал (стук миски) по прямому методу отсроченных реакций [1]. До начала опытов щенков приучали в экспериментальной комнате, а затем в закрытой сетчатой клетке, которая стояла у задней стены комнаты. В процессе приспособления к опытам щенков кормили из алюминиевой миски, одновременно постукивая ею об пол. После нескольких таких подкармливаний стук миски становился условным натуральным сигналом пищевого поведения: если где-либо за укрытием раздавался стук миски, животное подбегало к месту стука и находило там пищу. Исследование кратковременной памяти у щенков на стук миски производилось следующим образом: щенка сажали в закрытую клетку, спереди ставили большой непрозрачный щит, который прикрывал все поле зрения животного. Впереди, справа и слева, на расстоянии 3 м от животного ставили две ширмы. Расстояние между ширмами было 2,5 м. Экспериментатор бесшумно заходил за одну из этих ширм, постукивал миской об пол в течение 5—6 с и снова возвращался на свое место. Миску с пищей (вареное мясо весом 10—15 г) оставляли на месте постукивания или убирали для исключения следов запаха. Щенка после стука миски задерживали в клетке до определенного периода (отсрочка), затем клетку открывали и животное начинало поиски пищи. Во время каждого опыта давали 10 проб на отсрочку по схеме Геллермана [7]. Интервал между пробами составлял 1—1,5 мин.

РЕЗУЛЬТАТЫ ЭКСПЕРИМЕНТОВ

Наблюдения за общим поведением щенков с 3-месячного возраста показали, что у подопытных животных, судя по поведенческим проявлениям, отсутствуют какие-либо заметные отклонения в восприятии слуховых и зрительных раздражений: они, также как и контрольные щенки, быстро и четко реагировали на зрительные и слуховые стимулы, правильно ориентировались в окружающем пространстве. Например, они точно могли определить направление и местонахождение источника условного раздражителя (стук миски) с большого расстояния замечали и подбегали к пустым мискам, расставленным по комнате, во время пробежки не наталкивались на предметы и т. д. У травмированных щенков также не отмечалось нарушения в движении и локомоции, в пищевом и питьевом поведении.

Подготовка к экспериментам по отсроченным реакциям требовала заранее выработать у щенков разное условно-рефлекторное поведение: на кличку подбегать к экспериментатору, следовать за ним от вивария до экспериментальной комнаты, на окрик «на место!» возвращаться в клетку с любого участка экспериментальной комнаты. Все эти

простые условнорефлекторные реакции у них вырабатывались быстро. Наблюдалась некоторая разница в скорости выработки условных рефлексов как среди экспериментальных, так и среди контрольных щенков, но они обуславливались индивидуальными особенностями подопытных животных. Следует однако отметить, что в процессе работы со щенками складывалось впечатление, что экспериментальные щенки, по сравнению с контрольными, проявляли сравнительно большую пассивно-оборонительную реакцию при встрече с другими животными, а также в отношении новых, необычных предметов обстановки.

До начала опытов с отсроченными реакциями у щенков проверялась способность к пространственной дифференциации источника условных раздражителей (стук миски). С этой целью стук миски производился то за одной, то за другой ширмой, с нерегулярной очередностью, и каждый раз постукивание продолжалось до тех пор, пока щенок не достигал источника звука и не получал пищевого подкрепления. Наблюдения показали, что подопытные щенки, также как и контрольные, в целом адекватно реагировали на условный сигнал, они точно ориентировались по направлению условного сигнала и кратчайшим путем доходили до ширмы. Однако подопытные щенки в течение первых двух дней иногда затруднялись точно определить направление и местонахождение источника звука: если стук миски производился за правой ширмой, то при выходе из клетки щенки иногда бегали в противоположную от источника звука сторону и приходилось непрерывным стуком миски привлекать их к нему. Поэтому в сумме общее количество адекватных реакций в первые два дня у экспериментальных щенков было несколько меньше, чем у контрольных, которые всегда реагировали безошибочно (рис. 1, А).

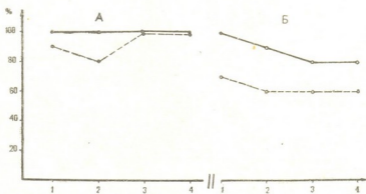


Рис. 1. Результаты опытов у экспериментальных и контрольных щенков в возрасте 92 (А) и 98 (Б) дней. На оси ординат — процент адекватных ответов из 10 проб; на оси абсцисс — дни. Сплошная кривая — контрольные щенки, пунктиром — экспериментальные. А — опыты проводились без отсрочки; Б — отсрочка 30 с

С третьего дня работы и все последующие дни по указанным выше тестам разница в поведении щенков не наблюдалась. Таким образом, экспериментальные щенки только в начальном периоде работы временами затруднялись точно дифференцировать направление и местонахождение условного раздражителя в пространстве.

Совершенно иные данные были получены в экспериментах с отсроченными реакциями. Последние выявили четкую и значительную разницу в поведении подопытных и контрольных щенков. В частности, травмированные щенки отличались сравнительно низким уровнем вы-

полнения отсроченных реакций. Как видно из рис. 1, Б, при 30-секундных отсрочках пищевой реакции они допускали в среднем на 20—30% больше ошибок, чем контрольные животные. Иначе говоря, экспериментальные щенки не были полностью лишены способности кратковременной слуховой памяти, но структурно-функциональная система обеспечения и регуляции этой формы памяти у них характеризовалась значительным дефицитом.

Как показали специальные эксперименты, осуществление адекватного пищевого поведения с большой отсрочкой (порядка 1—2 мин) для всех щенков оказалось непосильной задачей. В подавляющем большинстве случаев при этих отсрочках у щенков регистрировались ошибочные реакции. Таким образом, максимальная продолжительность кратковременной памяти у щенков, в частности у интактных щенков, была меньше одной минуты. По данным И. С. Бериташвили и сотр. [2] у взрослых интактных собак в опытах с отсроченными реакциями следы от восприятия условного звука-раздражителя (стук миски) удерживаются в памяти значительно дольше — в течение 5—6 мин. Если сравнить эти результаты с нашими данными с точки зрения онтогенетического изучения кратковременной памяти, то получается, что в первые месяцы жизни функция кратковременной памяти щенков значительно отличается от функции памяти взрослого организма. Иначе говоря, функциональная система, обеспечивающая кратковременную память у щенков в раннем постнатальном периоде (в возрасте 3 месяцев), является еще недостаточно зрелой и совершенной и лишь позже, в процессе онтогенетического роста и развития животного, она, созревая морфо-физиологически, достигает уровня взрослых животных.

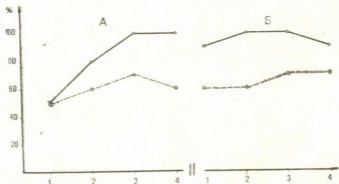


Рис. 2. Результаты опытов у экспериментальных и контрольных щенков в возрасте 118 (А) и 146 дней (Б). Продолжительность отсрочки 30 с. Обозначения те же, что и на рис. 1

Через 17 дней опыты на щенках были повторены. К этому периоду щенки достигли возраста 118 дней. Семнадцатидневный перерыв в работе не повлиял на сохранение выработанных навыков ни у экспериментальных, ни у контрольных групп щенков. Условнорефлекторные реакции на вид ширмы и клетки были сохранены: щенки, попав в экспериментальную комнату, первым делом подбегали к ширмам, за которыми они ранее многократно получали подкрепление, усиленно обнюхивали их и на окрик «на место!» возвращались в клетку. Таким образом, «интранатальная травма» головки не препятствовала выработке, длительному сохранению и последующему воспроизведению у щенков простых форм условнорефлекторных реакций.

Результаты по отсроченным реакциям (рис. 2, А) показывают, что в первый день работы после семнадцатидневного перерыва у обеих групп щенков при 30-секундных отсрочках общее число адекватных ответов оказалось на уровне случайных решений, что, по-видимому, было вызвано перерывом в работе. Кроме того, после перерыва у щенков двигательная активность была сильно повышена: на стук миски реагировали очень возбужденно, в период отсрочки беспокоились, все время двигались по клетке, скулили, лаяли, из клетки выбегали стремительно. Все это, очевидно, в какой-то мере также способствовало большому числу ошибок. В первый день у щенков была нарушена и дифференцированная пробежка к соответствующим ширмам на условный раздражитель. Однако со второго дня работы, после полного восстановления дифференцированной пробежки к ширмам, у обеих групп щенков процент адекватных ответов при 30-секундных отсрочках значительно увеличился, хотя существующая разница в количестве ошибочных ответов между ними сохранялась и на этой стадии работы (рис. 2, А).

Опыты, проведенные на щенках в возрасте 146 дней, т. е. после 24-дневного перерыва, по-прежнему выявили значительную разницу в поведении обеих групп щенков. Число ошибок, допускаемых подопытными щенками, незначительно колебалось, но в среднем на этой стадии работы оно оказалось на 30% больше, чем у контрольных животных (рис. 2, Б).

Следует подчеркнуть, что экспериментальные щенки обнаруживали значительную трудность только в тестах с отсроченными реакциями. Если опыты проводились без отсрочек и животным приходилось осуществлять пищевое поведение на фоне непрерывного действия условного сигнала, то разница в поведении между щенками исчезала полностью.

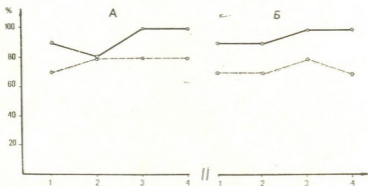


Рис. 3. Результаты опытов у экспериментальных и контрольных щенков в возрасте 169 (А) и 203 (Б) дней: А — продолжительность отсрочки у контрольных животных 1 мин, у экспериментальных — 30 с; Б — продолжительность отсрочки у контрольных животных 2 мин, у экспериментальных — 1 мин

В процессе работы у щенков наблюдалось улучшение отсроченных реакций. Так например, в возрасте 169 дней экспериментальные щенки при 30-секундных отсрочках показали 70—80% адекватных ответов. Контрольные щенки в этом возрасте показывали более высокие результаты уже при минутной отсрочке, т. е. они существенно превосходили «травмированных» щенков по длительности удержания следов кратковременной памяти (рис. 3, А).



Последний раз опыты на щенках были проведены в возрасте 7/12 месяцев. Результаты, представленные на рис. 3, Б, показывают, что к этому возрасту у щенков еще более заметно улучшались ответные реакции, они выражались как в увеличении процента адекватных ответов, так и в удлинении времени отсрочки. У подопытных щенков при 30-секундной отсрочке число адекватных ответов уже составляло в среднем 80—90%, а при 60-секундной — 70—80%. Контрольные щенки показывали высокие результаты (90—100% адекватных реакций) при 2-минутных отсрочках.

Результаты последних двух серий экспериментов показывают, что в процессе работы у обеих групп щенков, судя по отсроченным реакциям, продолжительность кратковременной памяти заметно увеличивалась, хотя в этом отношении значительное различие между ними по-прежнему сохранилось. Постепенное улучшение отсроченных реакций у обеих групп щенков, очевидно, происходило в результате онтогенетического роста и созревания животного, а также периодической тренировки нервных процессов, лежащих в основе формирования и реализации кратковременной слуховой памяти. Последние обстоятельства позволяют сделать заключение, что в процессе постнатального онтогенеза и периодической тренировки щенки, подвергшиеся внутриутробной травме головки, без специального лечения могут достигнуть значительного улучшения функции кратковременной памяти.

Таким образом, исследования показали, что непрямой вариант метода отсроченных реакций, с помощью которого у щенков выявлялась кратковременная память, оказался настолько чувствительным, что позволил достоверно обнаружить посттравматический эффект «внутриутробной травмы» головки плода. В частности, с помощью этой методики удалось показать, что «интранатальная травма» головки плода обуславливает у щенков значительный и продолжительный дефицит в механизме формирования и хранения следов кратковременной памяти. В процессе онтогенетического роста и периодической тренировки функция кратковременной памяти у травмированных щенков постепенно улучшается и совершенствуется, хотя всегда остается значительно ниже, чем у интактных животных.

ЛИТЕРАТУРА

1. Айвазашвили И. М. Тр. Ин-та физиологии АН ГССР, IV (XVII), 1976, 29—50.
2. Бриташвили И. С., Айвазашвили И. М., Орджоникидзе Ц. А. Тр. Ин-та физиологии АН ГССР, XIV, 1965, 23—38.
3. Зиракадзе А. Н., Бакрадзе М. Н. Мат. I съезда акушеров-гинекологов Грузинской ССР, Тбилиси, 1974, 154—156.
4. Зиракадзе А. Н., Бакрадзе М. Н., Махарадзе Л. М., Джапашвили Л. Ш. Мат. I съезда акушеров-гинекологов Грузинской ССР, Тбилиси, 1974, 86—87.
5. Зиракадзе А. Н. Мат. I съезда акушеров-гинекологов Грузинской ССР, Тбилиси, 1974, 58—59.
6. Зиракадзе А. Н., Мchedlishvili Н. Ш. Мат. I съезда акушеров-гинекологов Грузинской ССР, Тбилиси, 1974, 44—45.
7. Геллерман Г. Цитируется по Ж. «Экспериментальная психология», 2, 32—33, 1963.
8. Чачава К. В., Зиракадзе А. Н., Чиквадзе В. И., Мchedlishvili Н. Ш., Бакрадзе М. Н. Сообщения АН ГССР, 60, 2, 433—436, 1970.
9. Sulbough M. C., Maurice L., Bleckman D. E. Develop. Psychobiol., 9, 4, 335—342, 1976.



10. Huhmar E. P., Jarvinen A. Ann. Chirug. Gyn. Fenn., 52, 3, 372—375/1963.
 11. Roland E., Myers S. In: Perinatal Factors Affecting Human Development, Washington, D. C. 20037, USA, 205—215, 1969.
 12. Mossakowski M. J., Long M., Myers R., Curren H. R., Klatzo O. J. Neuropathol. Exp. Neurology, 27, 3, 500—516, 1968.
 13. Minculescu M., Onofri T. Ann. Pediatrice, 20, 2, 283—294, 1973.
 14. Windil W. F. In Perinatal Factors Affecting Human Development. Washington, D. C. 20037, USA, 1969.

ქალის ლევკოზში მიხსიერების ონტოგენეზი „ინტრანატალური“ გზაზე ჰიპოქსიის გადატანის შემდეგ

ი. აივაზაშვილი, ა. ზირაკაძე, მ. კარელი

საქართველოს სსრ მეცნიერებათა აკადემიის ი. ბერიტაშვილის სახელობის ფიზიოლოგიის ინსტიტუტი, თბილისი
 საქართველოს სსრ ჯანმრთელობის დაცვის სამინისტროს რესპ. პერინატალური მედიცინის, სამედიცინო-ვიზუალური სამეცნიერო-კვლევითი ინსტიტუტი, თბილისი

რეზიუმე

ლევკეზში, რომლებსაც ინტრანატალურად გადატანილი ჰქონდათ თავის მიდამოს ნექანოკური ტრავმა, შევისწავლეთ ხანმოკლე მეხსიერება ბგერითონატურალურ გამღიზიანებლებზე; ცდები ტარდებოდა თავისუფალი მოძრაობის პირობებში, დაყოვნებული რეაქციების მეთოდის გამოყენებით. გამოირკვა, რომ ცხოველებს, რომლებსაც თავის მიდამოში ინტრანატალურად გადატანილი ჰქონდათ ნექანოკური ტრავმა, ხანმოკლე მეხსიერება მნიშვნელოვნად უქვეითდებათ. მაგრამ მეხსიერების ეს დეფიციტი სულ უფრო და უფრო მცირდება ონტოგენეზური განვითარების შედეგად, მით უმეტეს თუ ლევკეზს პერიოდულად ეწვრთნით დაყოვნებული რეაქციის ტესტის გამოყენებით. ამის მიუხედავად „ტრავმაგადატანილი“ ლევკეზი ინტაქტურ ცხოველებს ვერ უტოლდებიან სწორი რეაქციების პროცენტული რაოდენობით, და მამასადაამე, ხანმოკლე მეხსიერების კვალის შენახვის ხანგრძლივობით.

ONTOGENESIS OF SHORT-TERM MEMORY OF PUPPIES FOLLOWING "INTRANATAL" ACUTE HYPOXIA

I. M. AIVAZASHVILI, A. N. ZIRAKADZE, E. A. KARELI

I. S. Beritashvili Institute of Physiology, Georgian Academy of Sciences, Tbilisi, USSR
 Institute of Perinatal Medicine, Obstetrics and Gynecology, Georgian Ministry of Health, Tbilisi, USSR

Summary

Short-term memory for a natural sound stimuli was studied in puppies following intranatal mechanical head trauma. Experiments were carried out in free moving animals by the method of delayed reactions. Short-term memory appeared to be patently impaired in the animals which had experienced intranatally a mechanical head trauma. This memory deficit, however, gets gradually attenuated with the ontogenetic development of the animals in case they are periodically trained to the delayed reaction test. Yet such "traumatized" puppies are never equal to the intact ones in the percentage of correct reactions and thus, in the duration of short-term memory traces.

ЗАВИСИМОСТЬ ЭФФЕКТА СЫВОРОТКИ КРОВИ НА МИГРАЦИЮ ЛЕЙКОЦИТОВ В ЛЕЙКОЦИТАРНОЙ КУЛЬТУРЕ ОТ ЕЕ ЭРИТРОПОЭЗСТИМУЛИРУЮЩЕЙ И ИНГИБИРУЮЩЕЙ АКТИВНОСТИ

Н. К. Дихаминджия, Н. Ш. Чавчанидзе, Г. П. Москалева,
В. И. Гудим, К. И. Канделаки, Г. Н. Берадзе

*Тбилисский государственный институт усовершенствования врачей
Центральный ордена Ленина институт гематологии и переливания крови, Москва*

Поступила в редакцию 24.11.1977

Работа содержит данные изучения гуморальных факторов регуляции эритропоэза сыворотки крови 75 больных. Исследования проводились тремя методами. Эритропоэзстимулирующую и ингибирующую активности определяли по ретикулоцитарной реакции на полицитемических мышах. Использован также метод лейкоцитарной культуры. В 22 случаях сыворотка крови исследовалась тремя методами, а в 53 — двумя. Выявлено 9 вариантов сочетания результатов трех методов.

На сегодняшний день нет возможности прямого измерения гуморальных эритропоэзстимулирующих и ингибирующих факторов (ЭСФ и ЭИФ). Используемые методы отражают эффект исследуемого материала на специфическую рецепторную систему — эритропоэтическую гвань. Так получается информация о наличии эритропоэзстимулирующей или ингибирующей активности (ЭпСА или ЭпИА).

Установлено, что для конкретной экспериментальной ситуации характерно повышение или ЭпСА (при кровопотери, гемолизе, гипоксии, медикаментозной стимуляции эритропоэза) или ЭпИА (при гемотрансфузии, гипероксии, двусторонней нефрэктомии). Поэтому для сравнения и оценки различных методов используется материал с заведомо усиленной ЭпСА и ЭпИА. Так, в частности, было установлено, что предварительное подавление эритропоэза у тест-животных значительно повышает их чувствительность к стимулирующей активности. Однако было показано, что в зависимости от используемой методики сыворотка крови больных анемией одновременно может проявлять как ЭпСА, так и ЭпИА [9]. Вероятно, компенсаторная функция гуморальной регуляции эритропоэза проявляется в таком изменении соотношения ЭСФ и ЭИФ, которое обеспечивает необходимое для конкретной ситуации появление эритропоэзстимулирующей или ингибирующей способности. При определенных состояниях возможны однонаправленные сдвиги обоих факторов. Метод исследования гуморальной регуляции при этом может не выявлять никакой активности. Однако при выявлении ЭпСА и ЭпИА именно в данной ситуации можно говорить о высокой специфичности метода к стимулирующим или ингибирующим факторам эритропоэза.

Вышесказанное определило целесообразность проведенной нами работы — исследования сыворотки крови одновременно двумя методами, считающимися избирательно чувствительными к ЭпСА или

ЭпИА. Параллельно проводили исследования не прямым, но более удобным для клинических условий методом — культурой лейкоцитарной пленки. Допуская, что при патологических состояниях наиболее возможно возникновение различных вариантов изменения ЭСФ и ЭИФ, для исследования брали кровь больных язвенной болезнью желудка и двенадцатиперстной кишки, резекцией желудка и с хронической почечной недостаточностью.

В 1969 г. нами была предложена модификация метода определения ЭпСА на постгипоксических полицитемических мышах по степени ретикулоцитарной реакции. Было установлено, что на 7-й день после прекращения гипоксического воздействия уровень ретикулоцитов у мышей составляет всего 0,8—0,15%. Введение физраствора на 3—4 день после гипоксии не изменяет количества ретикулоцитов ($1,2 \pm 0,09\%$), в то время как введение стандарта эритропоэтина «С» (0,5 ед.) увеличивает количество ретикулоцитов до 15%. Анемическая сыворотка также давала выраженный ретикулоцитогенный эффект [6].

Степень торможения ретикулоцитарной реакции, вызываемой стандартом эритропоэтина, вводимого мышам через час после инъекции исследуемого материала, была использована в качестве показателя ЭпИА. Было показано, что введение крови животных с экспериментальной посттрансфузионной полицитемией давало статистически достоверное снижение ретикулоцитогенного эффекта, вызванного введением стандарта эритропоэтина «С» [4]. Метод лейкоцитарной культуры для определения гуморальных регуляторов эритропоэза предложен М. Г. Кахетелидзе в 1952 году [5]. Известно, что сыворотка крови животных после кровопотери, вызывая ретикулоцитарную реакцию у полицитемических мышей, стимулирует в то же время миграцию лейкоцитов в культуре лейкоцитарной пленки [7].

Настоящая работа содержит данные 75 исследований сыворотки крови. В 22 случаях анализ проводили одновременно всеми тремя методами, а в 53 — двумя.

МЕТОД ОПРЕДЕЛЕНИЯ ЭпСА НА ПОЛИЦИТЕМИЧЕСКИХ МЫШАХ

Полиглобулию у мышей вызывали содержанием их в барокамере при давлении 460—360 мм ртутного столба в течение 10 дней по 16 ч в сутки. Испытуемый материал (1 мл сыворотки крови) вводили внутривенно на 3 и 4 день после прекращения действия гипоксии. Каждую пробу вводили группе из 4—6 мышей. Для подсчета ретикулоцитов кровь брали на 7 день после прекращения гипоксии. Для получения исходных величин полицитемическим мышам в идентичные сроки вводили 1 мл физраствора и 0,5 ед. стандарта эритропоэтина «С». Сравнение производили по методу вычисления критерия непараметрической статистики «U» (критерия Вилконсона-Манна-Уинтли) [3]. Результаты группировались в виде четырехпризначной системы: не отличающиеся от эффекта физраствора (—), превышающие эффект физраствора (0), равные эффекту стандарта «С» (+) и превышающие эффект стандарта «С» (++) . Нулем обозначаются показатели ЭпСА, превышающие эффект физраствора, но не достигающие эффекта стандарта «С». Подобный эффект был получен от введения сывороток здоровых лиц [1].

МЕТОД ОПРЕДЕЛЕНИЯ ЭпИА НА ПОЛИЦИТЕМИЧЕСКИХ МЫШАХ

Подготовка животных и введение испытуемого материала проводились идентично первому методу. Разница состояла в том, что через



1 ч после инъекции испытуемого материала вводили стандарт эритропоэтина «С». За контроль принимали уровень ретикулоцитоза, определенный после введения стандарта «С». Статистическая обработка проводилась аналогично. Результаты опыта характеризовались как не отличающиеся от эффекта стандарта эритропоэтина (0) и статистически достоверно меньше эффекта стандарта эритропоэтина менее чем на 50% (+) и более чем на 50% (++). Полного снятия эффекта эритропоэтина испытуемым материалом не наблюдалось. Сыворотка крови здоровых людей не меняет эффект стандарта эритропоэтина [9].

МЕТОД ЛЕЙКОЦИТАРНОЙ КУЛЬТУРЫ

Лейкоцитарная культура состоит из лейкоцитарной пленки, полученной из крови практически здоровых людей, питательной среды, состоящей из человеческой и кроличьей плазмы, и исследуемой сыворотки крови или раствора Рингера. Кусочки пленки культивируются по методу висячей капли в течение 6 ч при температуре +37°C. На каждый опыт берется по 5—6 кусочков пленки. Показателем степени миграции служит величина среднего пробега лейкоцитов от края лейкоцитарной пленки, что составляет разницу между средними радиусами лейкоцитарной культуры и пленки. Надо отметить, что используемый обычно способ вычисления этой величины через сопоставление площадей зоны миграции и лейкоцитарной пленки, измеряемых методом планиметрии, не является точным, поскольку исключает поправку при различных размерах пленки. Проведенные нами исследования выявили обратную зависимость конечных результатов от величины кусочка пленки. Многократной проверкой было установлено, что для определения средних радиусов достаточно четырех обоюдоперпендикулярных измерений. Проверка заключалась в сопоставлении данных о размерах площадей, полученных взвешиванием и вычислением среднего радиуса. Сравнение показателей размеров среднего пробега лейкоцитов в исследуемом материале и в растворе Рингера проводили вычислением критерия «U». Результаты группировались в виде трехзначной системы: достоверное снижение — торможение миграции (—), достоверное увеличение — стимуляция миграции (+) и отсутствие разницы (0). Сыворотка крови здоровых в 96% случаев не влияла на миграцию лейкоцитов [2].

При исследовании сыворотки крови одновременно тремя методами были выявлены 7 вариантов сочетания показателей ЭпСА, ЭпИА и влияния на миграцию лейкоцитов (табл. 1).

Как видно из таблицы, в то время когда сыворотка крови умеренно стимулирует ретикулоцитарную реакцию у полицитемических мышей и подавляет эффект эритропоэтина, она является интактной в отношении лейкоцитарной пленки (вариант I). Так как подобными свойствами обладает сыворотка крови большинства обследованных здоровых людей, можно заключить, что вариант I является физиологическим. Сыворотка крови не оказывала влияния на лейкоцитарную культуру и в тех случаях, когда ее эффект на полицитемических мышах равнялся эффекту стандарта «С», а при одновременном введении имелось статистически достоверное подавление эффекта эритропоэтина (вариант II). Вероятно, в это время имеется сбалансированное умеренное повышение обоих регулирующих эритропоэз факторов. Небольшое повышение ЭпИА, по-видимому, уравновешивается и нормальным уровнем ЭпСА (вариант III). Объяснение тормозящего миграцию лейкоцитов эффекта сыворотки крови при вариантах IV—VII можно найти в преобладании ЭпИА над ЭпСА. Примечателен факт отсутствия сочетания низкой ЭпСА с резким увеличением ЭпИА,

что, вероятно, указывает как на специфичность используемых методов, так на маловероятность такого варианта при изучаемых экспериментальных патологических состояниях.



Таблица 1
Варианты сочетания показателей ЭпСа, ЭпИА и влияния сыворотки крови на миграцию лейкоцитов


Вариант	Показатели			Количество случаев
	ЭпСА	ЭпИА	влияния на миграцию	
I	0	0	0	11
II	+	+	0	1
III	0	+	0	3
IV	—	+	—	3
V	—	0	—	2
VI	0	++	—	1
VII	+	++	—	1

В 50 случаях одновременное исследование сыворотки крови проведено двумя методами — определением ЭпСА на полицитемических мышах и культурой лейкоцитарной пленки. В табл. 2 показано выявление сочетания показателей параллельно поставленных опытов.

Таблица 2
Сочетания отдельных показателей ЭпСА и результатов влияния сыворотки крови на миграцию лейкоцитов (n=50)

№	Показатели		Количество случаев
	ЭпСА	влияния на миграцию	
1	0	0	17
2	—	—	14
3	0	—	11
4	+	0	1
5	+	—	2
6	++	0	3
7	++	+	2

Как видно из таблицы, часто (17 случаев) нормальный уровень ЭпСА сочетался с отсутствием эффекта в лейкоцитарной культуре. Такое сочетание может отражать I или III вариант, т. е. можно допустить отсутствие или небольшое повышение ЭпИА. В 14 случаях наблюдали отсутствие ЭпСА при тормозящем миграцию лейкоцитов эффекте сыворотки крови, вероятно, соответствующем вариантам IV или V. Можно предположить, что в остальных 13 случаях торможе-



ние миграционной способности лейкоцитов было определено значительным повышением ЭпИА, так как в II из них имелась нормальная ЭпСА (вариант VI) и в 2 — она была на уровне стандарта (вариант VII). В одном случае увеличение ЭпСА не способствовало стимуляции миграции лейкоцитов, вероятно, в силу адекватного повышения ЭпИА сыворотки крови (вариант III). В остальных 5 случаях сыворотка проявляла значительную Эпса. Отсутствие эффекта сыворотки на миграцию лейкоцитов в трех случаях, вероятно, объясняется столь же значительным повышением и ЭпИА (вариант VIII). В двух случаях стимуляция миграции отражала высокий уровень ЭпСА (вариант IX).

В 3 случаях исследование проводилось параллельно с поставленным методом лейкоцитарной культуры и определения ЭпИА на полицитемических мышцах. В одном случае увеличение ЭпИА не влияло на миграцию лейкоцитов (II или III вариант), а в двух остальных — отсутствие ЭпИА сочеталось с торможением миграции (вариант V) или отсутствием эффекта на лейкоцитарную пленку (вариант I).

Тот факт, что сыворотка крови больных, проявляя выраженный ретикулоцитогенный эффект на полицитемических мышцах при одновременном введении со стандартом эритропоэтина, подавляет эффект стандарта (наличие вариантов II и VII), дает право говорить о высокой специфичности использованных методов определения ЭпСА и ЭпИА и о возможности одновременного их увеличения.

Данные настоящей работы позволяют выделить 9 вариантов сочетания результатов, получаемых методами определения ЭпСА и ЭпИА на полицитемических мышцах и методом лейкоцитарной культуры. Миграция лейкоцитов оставалась без изменения при нормальной ЭпСА и ЭпИА (I), их одновременном адекватном увеличении (II и VIII) и также при обособленном небольшом увеличении ЭпИА (III).

Торможение миграции получено при снижении ЭпСА как с увеличением, так и без одновременного увеличения ЭпИА (IV и V) и при значительном повышении ЭпИА, даже с умеренным увеличением ЭпСА (VI и VII).

Стимулирующий миграцию лейкоцитов эффект был определен значительным увеличением ЭпСА (IX).

Таким образом, было установлено, что эффект сыворотки крови на лейкоцитарную культуру зависит от соотношения в ней ЭпСА и ЭпИА, выявляемых соответствующими методами на полицитемических мышцах.

В настоящее время установлено, что наличие определенного количества ЭСФ в сыворотке крови необходимо для физиологического кроветворения [8]. Как отмечалось, сыворотка крови здоровых лиц проявляет определенную ЭпСА и по ретикулоцитарной реакции на полицитемических мышцах. Отсутствие последующей стимуляции эффекта стандарта эритропоэтина материалом, содержащим ЭпСА, вероятно, указывает на наличие в нем ЭпИА. Таким образом, в зависимости от использованной методики исследования могут выявляться разные свойства сыворотки крови. При этом последнее во многом зависит от функционального состояния эритропоэза тест-животных, т. е. от чувствительности соответствующих клеточных популяций к ЭСФ и ЭИФ продукту их взаимореакции. Соответственно и в организме сыворотка крови больных может проявить различное воздействие на эритропоэз в зависимости от его состояния.

При острых компенсаторных реакциях, которые в основном и воспроизводятся в экспериментах, когда в крови усиливаются ЭпСА или ЭпИА, применение отдельных методик, в частности одного из

трех использованных в настоящей работе, не показывает принципиально отличающихся результатов.

При патологических состояниях возникают более сложные изменения в системе гуморальной регуляции эритропоэза. Ограничение при этом одним методом исследования гуморальной регуляции представляется ошибочным. Так, в частности, при исследовании настоящего клинического материала было установлено, что выявленное торможение миграции лейкоцитов в некоторых случаях обусловлено снижением ЭпСА, а в других — увеличением ЭпИА. Отсутствие эффекта на миграцию лейкоцитов также определялось или нормальной ЭпСА и ЭпИА сыворотки крови, или же их одновременным увеличением.

ЛИТЕРАТУРА

1. Берадзе Г. Н., Корецкая Т. И., Москалева Г. П., Гудим В. И. Кардиология, 9, 128—131, 1971.
2. Берадзе Г. Н., Чавчанидзе Н. Ш., Яшвили Г. М. Мат. II науч. конф. ЦНИЛ Тбил. гос. ин-та усоверш. врачей, Тбилиси, 1977, 14—17.
3. Гублер Е. В., Генкин А. А. Применение критериев непараметрической статистики для оценки различий двух групп наблюдений в медико-биологических исследованиях, М., 1969.
4. Гудим В. И., Москалева Г. П. Пат. физиол., 2, 47—51, 1976.
5. Кахетелидзе М. Г. Экспериментально-патологические исследования гемопозитического фактора желудка с помощью нового метода. Автореф. канд. дисс. М., 1952.
6. Корецкая Т. И., Москалева Г. П., Гудим В. И., Серебряная Б. А. Пат. физиол., 3, 77—79, 1969.
7. Москалева Г. П., Корецкая Т. И., Гудим В. И., Серебряная Б. А. Пробл. гемат. пер. крови, 13, 11, 30—33, 1968.
8. Федоров Н. А. Вестник АМН СССР, 9, 50—54, 1976.
9. P. Sugalla, W. I. Gudim, W. S. Iwanowa, E. Eggert. I Kindernephrologisches Sympos. Sozial. Zünder. 12—16 September, Eisenach, DDR, Vortrag.

ლიეოკოციტურ კულტურაში ერიტროციტობიის მიგრაციაზე სისხლის შრატის გავლენის დამოკიდებულება იმაზე, თუ როგორია შრატის ერიტროციტობიის, მასტიმულირებელი და დამთრბუნველი მოქმედება

ბ. ღინაზიანი, ნ. ზაზანიძე, ბ. მოსკალეოვა, ვ. გუდუმი, ქ. კანდელაკი, ბ. ბერაძე

თბილისის უკიბოა დახელოვნების სახელმწიფო ინსტიტუტი
მოსკოვის ცენტრალური ლენინის ორდენისანი სისხლის ვადასხმის და
ჰემატოლოგიის ინსტიტუტი

რ ე ზ ი უ მ ე

თირკმელების ქრონიკული ნაკლოვანებით, კუჭისა და თორმეტგოჯა ნაწლავის წყლულოვანი დაავადებით შეპყრობილ და კუჭის რეზექციის შემდგომ პერიოდში მყოფი 75 ავადმყოფის სისხლის შრატი შესწავლილ იქნა ჰემორუ-ლი რეგულატორების გამოკვლევის სამი სხვადასხვა მეთოდით. შრატის ერი-თროპოეზის მასტიმულირებელი და შემაკავებელი აქტივობის გამოსავლინებ-ლად გამოყენებულ იქნა პოლიციტემიურ თავებში რეტრიკულოციტური რეაქ-ციის განსაზღვრის მეთოდი. პარალელურად შესწავლილ იქნა ამავე შრატების გავლენა ჯანმრთელი ადამიანების ლეიკოციტარული აპკის კულტურაში ლეიკო-ციტების მიგრაციაზე.

2. Серия биологическая, т. 5, № 1

გამოირკვა, რომ ამ გავლენის ხასიათი დამოკიდებულია იმაზე, თუ როგორ
რია ერითროპოეზის მასტიმულირებელ და აქტივობის დამორგუნველ ინტენ-
სიობათა თანაფარდობა, რაც აღნიშნული პათოლოგიების დროს რამდენიმე
ვარიანტის სახით იჩენს თავს.

DEPENDENCE OF BLOOD SERUM EFFECT ON LEUCOCYTE MIGRATION IN LEUCOCYTIC CULTURE UPON ITS ERYTHROPOIESIS STIMULATING AND INHIBITING ACTIVITIES

N. K. DIKHAMINJIA, N. Sh. CHAVCHANIDZE, G. F. MOSKALEVA, V. I. GUDIM,
K. I. KANDELAKI, G. N. BERADZE

Institute for Advanced Medical Training, Tbilisi,

The Central Institute of Hematology and Blood Transfusion, Moscow, USSR

S u m m a r y

The results of the study of humoral factors of erythropoiesis regulation in the blood serum of 75 patients are presented. Three methods were used. Erythropoiesis stimulating and inhibiting activities were determined by reticulocytar reaction in polycytemic mice. The method of leucocytic culture was also used. In 22 cases blood serum was investigated by three methods, in 53 cases by two methods. 9 variants of the combination of the three methods have been revealed.

УДК 612.812

ФИЗИОЛОГИЯ ЧЕЛОВЕКА И ЖИВОТНЫХ

ДИНАМИКА ПРИВЫКАНИЯ В НЕЙРОНАХ МОЛЛЮСКА

В. Б. Парвания, Н. Н. Тавхелидзе

Институт кибернетики АН ГССР, Тбилиси

Поступила в редакцию 27.7.1977

Изучалось привыкание нейронов виноградной улитки к внутриклеточным раздражениям. Показано, что привыкание зависит как от силы раздражающих импульсов, так и от их частоты. Показано также, что кратковременный перерыв в стимуляции ускоряет процесс привыкания. Показана возможность существования в нейронах улитки нескольких механизмов привыкания. Высказано предположение, что привыкание механизма потенциалов действия к стимуляции в пейсмекерных клетках связано с перемещением триггерной зоны на мембране нейрона.

Под пластичностью понимают направленные изменения реакции нейрона под влиянием последовательного предъявления действующего стимула. Существуют две основные формы пластичности: постепенное уменьшение ответа (привыкание или габитуация) и постепенное усиление ответа (облегчение или фасилитация) [4]. Существуют два типа привыкания. Первый из них связан с изменением эффективности синапсов и называется синаптическим привыканием. Основой механизма синаптического привыкания являются либо пресинаптические механизмы изменения эффективности синапсов, либо изменение эффективности в постсинаптическом звене. Как указывает ряд авторов [8, 9, 11], наиболее вероятным механизмом синаптического привыкания является истощение медиатора в синапсах. В связи с изменением понятия о нейроне как о простом сумматоре постсинаптических потенциалов (ПСП) [7, 10] особое внимание привлекает второй тип габитуальных изменений, обусловленных функциональными изменениями эндогенных параметров нейрона. Под функциональными изменениями мы подразумеваем, с одной стороны, изменения, вызванные пластическими свойствами пейсмекерного механизма, а с другой — десенситизацию постсинаптической мембраны, изменения реактивности и изменения структуры постсинаптического нейрона [1, 2, 3].

Наиболее широко изучены синаптические типы привыкания [7, 10]. При изучении же внутриклеточных процессов привыкания большее внимание было уделено габитуальным процессам в пейсмекерном звене и показано, что запускающим механизмом пейсмекерной пластичности служат синаптические процессы. Для исследования эндонейрональной габитуации наиболее удобной моделью является внутриклеточное раздражение [6, 7], где используются слабые импульсы тока, вызывающие активацию или инактивацию пейсмекерного механизма. Однако мы не располагаем данными по изучению эндогенного привыкания в связи с изменением параметров стимула.

Хотя высказан ряд гипотез, объясняющих пластичность, тем не менее механизмы привыкания и фасилитации остаются неясными.

В связи с вышесказанным целью настоящей работы было изучение привыкания в зависимости от различных условий и параметров раздражающих стимулов.

изучение
раздражающих
стимулов

МЕТОДИКА ЭКСПЕРИМЕНТА

Объектом исследования служила изолированная нервная система моллюска *Helix pomatia*. Ганглии помещали в физиологический раствор, состав которого был описан ранее [3]. В клетку вводили два микроэлектрода (МЭ), сопротивление которых составляло 10—12 Мом. Один МЭ был регистрирующим, второй использовали для внутриклеточного раздражения. Нервы, отходящие от ганглиев, накладывались на хлорсеребрянные электроды. Внутриклеточные раздражения производили с помощью универсального биологического стимулятора ЭСУ-1. Для ортодромной стимуляции применяли либо ЭСУ-1, либо стимулятор оригинальной конструкции. Отведение биопотенциалов производили через катодный повторитель на полевых транзисторах, который одновременно является усилителем постоянного тока. Выход его присоединялся к осциллографу типа С1-17 для визуального наблюдения и самописцу типа УСЧ8-03. Были изучены в основном нейроны подглоточных ганглиев.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

Известно, что по электрической активности нейроны моллюска можно разделить на пейсмекерные, обладающие внутренним ритмоводительным механизмом, и синаптические, которые таким механизмом не обладают. В свою очередь пейсмекерные клетки делятся на актуальнопейсмекерные и латентнопейсмекерные нейроны [3]. Обычно синаптические нейроны отвечают на стимулы, которые слегка превышают пороговое значение на 22—28 раздражений, после чего начинается процесс привыкания. Нейрон «пропускает» сначала каждые вторые импульсы, далее по 2 и 3, затем быстро (почти скачкообразно) наступает полное привыкание*.

На рис. 1а и 1б показано привыкание молчащего нейрона к слабым внутриклеточным деполяризующим стимулам амплитудой 20 мВ и длительностью 4 мс. Несмотря на общую закономерность, привыкание к стимулу у различных нейронов происходит с неодинаковой скоростью и длительностью. Это связано как со свойствами данного нейрона, так и с силой раздражающих импульсов. С повышением амплитуды стимулов время, необходимое для появления габитуации, увеличивается, а при более сильных (намного превышающих порог) воздействиях вызвать привыкание не удается в течение многих минут. На рис. 1в показано начало привыкания данного нейрона к стимулам амплитудой 60 мВ и длительностью 4 мс. Процесс частичного привыкания в этом случае занял более чем 480 с.

В клетках можно вызвать ускорение габитуации, если стимуляцию прекратить на короткий срок (несколько секунд), а затем вновь восстановить. В таком случае наблюдается резкое сокращение времени необходимого для полной габитуации — рис. 1г. Параметрами раздражающего воздействия были: амплитуда стимулов — 30 мВ, дли-

* Под полным привыканием будем понимать такой процесс, когда нейрон не отвечает потенциалом действия (ПД) ни на один стимул. При частичном привыкании нейрон на некоторые стимулы все же реагирует спайками.

тельность — 4 мс, частота — 0,16 Гц. Клетка реагировала на стимулы в течение 100 с. 18-секундный интервал привел к появлению габитуации.

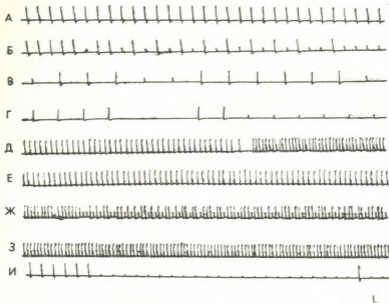


Рис. 1. Привыкание синаптического нейрона к стимулам: а — ответы нейрона на ритмическую внутриклеточную стимуляцию; б — начало привыкания (параметры стимулов: амплитуда — 20 мВ, длительность — 4 мс); в — начало привыкания к стимулам, три раза превышающим пороговое значение; г — пробел между четвертым и пятым импульсами соответствует кратковременному перерыву, что ускоряет привыкание; д — влияние изменения частоты (от 0,9 Гц до 1,2 Гц) раздражения на привыкание клетки; е — дисгабитуация нейрона, связанная с понижением частоты; ж — начало привыкания нейрона к стимулам амплитудой 22 мВ и длительностью 4 мс; з — отсутствие привыкания после 10-минутного перерыва на те же стимулы; и — привыкание нейрона к синаптическим воздействиям. Отсутствие обозначений момента нанесения раздражений связано с тем, что каждый раздражающий импульс вызывал появление артефакта на линии МП. Калибровка 50 мВ, 1 с

Скорость и длительность привыкания, наряду с силой сигнала, существенно зависят от частоты стимуляции. В наших экспериментах нижний предел частот 0,1 Гц был ограничен возможностями стимулятора. С повышением частоты раздражения уменьшается время, необходимое для начала габитуации, а также время самого привыкания. На рис. 1д показано влияние частоты стимулов на привыкание нейрона к ним. При частоте 0,9 Гц клетка не проявила склонность к привыканию, однако повышение частоты уже до 1,2 Гц привело к появлению привыкания. Возвращение частоты стимулов к 0,9 Гц вызвало восстановление ответов на все стимулы — рис. 1е. Из сказанного, конечно, не следует, что клетка вообще не привыкает к стимуляции данной частоты, но для этого требуется больше времени.

В тех случаях, когда происходит полное привыкание, для восстановления способности нейрона отвечать на раздражение тех же параметров требуется более чем 10 мин. Если же имеет место неполное привыкание, то перерыв в несколько десятков секунд достаточен для восстановления исходной «реактивоспособности». На рис. 1ж показано

привыкание нейрона к стимуляции. Рис. 1з иллюстрирует восстановление реакций нейрона на стимуляцию после 40-секундного периода молчания. На фоне этой дисгабитуации привыкание к ортодромным стимулам в синаптическом звене происходит за несколько секунд — рис. 1и.

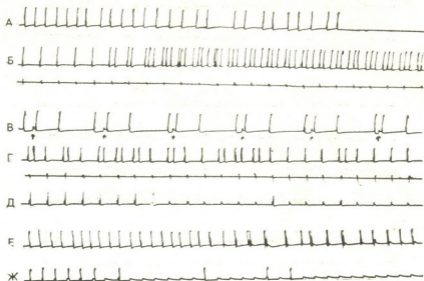


Рис. 2. Привыкание пейсмекерных нейронов к стимулам: а — фоновая активность пейсмекерного нейрона и его переход в молчащее состояние; б — верхняя линия — ответы нейрона на внутриклеточную стимуляцию импульсами амплитудой 20 мВ и длительностью 4 мс; нижняя — моменты нанесения стимулов; в — то же, что и б, только развертка увеличена в 10 раз (стрелками показаны моменты нанесения стимулов); г — привыкание пейсмекерного механизма к внутриклеточному раздражению (фрагмент является продолжением записи, показанной на б и в); д — полное привыкание клетки; е — привыкание актуальнопейсмекерного нейрона к внутриклеточному раздражению, которое происходит в такт собственному ритму нейрона (параметры стимулов — 20 мВ, 4 мс); ж — сдвиг момента возникновения ПД от момента нанесения стимула (момент нанесения стимула соответствует артефакту на линии потенциала покоя). Калибровка 50 мВ, 1 с

Наличие пейсмекерного механизма в ритмоводительных клетках придает им своеобразность в процессе привыкания. Внутриклеточные околокритические стимулы сначала вызывают в нейронах, находящихся в молчащем состоянии, возникновение ПД в ритме стимуляции, затем происходит активация пейсмекерного механизма. В это время на каждый стимул клетка отвечает одним ПД, вызванным стимулом и несколькими импульсами пейсмекерного происхождения. Далее, пейсмекерный механизм быстро привыкает к раздражителю и клетка генерирует лишь ПД, вызванными внутриклеточными раздражениями. Через определенное время клетка привыкает и к этим раздражениям и перестает реагировать на них ПД. На рис. 2а изображен момент спонтанного перехода нейрона в молчащее состояние. Внутриклеточные ритмические раздражения вызывают подключение пейсмекерного механизма (рис. 2б, г). Затем происходит габитуация сперва пейсмекерного звена (рис. 2г), а затем всей клетки (рис. 2д). Весь процесс привыкания к стимулам одинаковой силы и частоты в пейсмекерных клетках наступает значительно позже, чем в синаптических. Однако

следует отметить, что воздействия, о которых речь шла выше, в случае синаптических клеток пригодны и для изменения динамики привыкания пейсмекерных клеток. В актуальности пейсмекерных клеток процесс привыкания к внутриклеточным стимулам отличается некоторыми особенностями. Как известно, эти клетки обладают спонтанной спайковой активностью. Раздражение этих нейронов слабыми внутриклеточными импульсами приводит к тому, что они быстро привыкают к ним и паттерн активности остается фоновым. Однако увеличение силы раздражающих стимулов вызывает подавление пейсмекерного потенциала, и нейрон генерирует спайки, вызванные раздражением. В таком случае привыкания не наступает в течение многих минут. Интересным является случай, когда слабое внутриклеточное раздражение происходит в такт с пейсмекерным потенциалом. Это можно осуществить, если выход катодного повторителя присоединить к входу стимулятора. В таком случае нейрон ритмично генерирует пары импульсов, первый из которых является пейсмекерным ПД, а второй вызван раздражением. Задержка между импульсами определяется по стимулятору. Нейрон привыкает к стимуляции и продолжает генерировать только пейсмекерные ПД (рис. 2е).

Общим для процесса привыкания всех нейронов было то, что во время габитуации наблюдался сдвиг момента возникновения ПД от момента раздражения на несколько десятков мс. На рис. 2ж можно заметить как «ускользает» ПД от стимула, момент которого соответствует артефакту на линии потенциала покоя. Следует также подчеркнуть, что в большинстве случаев потенциал покоя клеток не менялся.

Таким образом, уменьшение возбудительной реакции — привыкание нейрона — выражается в том, что нейрон отвечает преимущественно на первые стимулы, постепенно переставая реагировать на последующие раздражения. Нетрудно заметить, что привыкание может происходить как в синаптическом звене, так и на уровне самой клетки. В синаптическом звене привыкание является результатом истощения медиатора в пресинаптических окончаниях [1, 9, 10].

Совершенно отличные от истощения механизмы лежат, видимо, в основе внутриклеточного привыкания. Процесс внутриклеточного привыкания — сложный процесс, который, очевидно, состоит из нескольких этапов. Следует отметить, что динамика привыкания синаптических нейронов отличается от пейсмекерных клеток. Одним из этапов в процессе привыкания в пейсмекерных нейронах, возможно, является «диффузия» триггерной зоны возникновения ПД. На каждый последующий стимул клетка отвечает перемещением триггерной зоны. В конце концов внутриклеточное раздражение становится локальным процессом и не может вовлечь всю мембрану нейрона в возбуждение. Увеличение силы стимула вызывает распространение локального возбуждения мембраны около раздражающего МЭ на большую поверхность. Несмотря на «ускользание» триггерной зоны, возбуждение достигает ее. Вследствие этого процесс привыкания затрудняется. Наличие нескольких механизмов привыкания вытекает из данных экспериментов, в которых была показана различная динамика привыкания к внутриклеточным раздражениям и синаптическим воздействиям (рис. 1з, и). Это подтверждается и результатами по изучению привыкания в латентно-пейсмекерных нейронах. Показано, что привыкание пейсмекерного механизма к внутриклеточным стимуляциям наступает намного быстрее, чем механизма генерации ПД.

В последнее время появилось сообщение об изменении габитуальных характеристик нейрона, вызванных ранее наносимыми раздражениями, и показано, что опыт модифицирует пластические свойства ней-



რონა [12]. Полученные нами результаты изменения степени привыкания, связанного с изменением условий стимуляции, подтверждают эту точку зрения.

Таким образом, выясняется, что привыкание не является жестким процессом и обладает определенной пластичностью. Это делает возможным управлять им.

Весьма вероятно, что в нервной клетке имеется регуляторный механизм, аналогичный по своей функции описанному в работе [1]. Этот механизм по обратной связи регулирует вход, в результате чего и происходит ослабление ответа на последующие сигналы. Длительное прекращение стимуляции переводит клетку в исходное состояние. При кратковременном прекращении стимуляции влияние обратной связи остается, в то время как прямое воздействие отсутствует. Это приводит к ускорению тех перестроек, которые уже начались в клетке. Этим можно объяснить ускорение габитуации при кратковременном перерыве раздражения. Возможно, вышеуказанная обратная связь является важным звеном всего привыкания и ее степень регулирует длительность габитуации. В таком случае увеличение частоты стимуляции вызывает повышение эффективности этой обратной связи и, следовательно, имеет место ускорение привыкания.

ЛИТЕРАТУРА

1. Вульфус Е. А., Зейнал Э. В. В сб.: Эволюционная нейрофизиология и нейрохимия. «Наука», Л., 1967, 17—25.
2. Гершенфельд Х. М. В сб.: Физиология и фармакология синаптической передачи, «Наука», Л., 1973, 146—176.
3. Парцвания В. Б. Сообщения АН ГССР, **67**, 3, 445—448, 1972.
4. Пейсмекерный потенциал нейрона (под ред. Соколова Е. Н. и Тавхелидзе Н. Н.), «Мецниереба», Тбилиси, 1975, 87—108.
5. Прибрам К. Языки мозга. «Прогресс», Москва, 1975, 65—119.
6. Соколов Е. Н., Ярмизина А. А. В сб.: Механизмы формирования и торможения условных рефлексов, «Наука», М., 1973, 163—183.
7. Соколов Е. Н., Ярмизина А. А. В сб.: Нейронные механизмы ориентировочного рефлекса, Изд. МГУ, М., 1970, 111—117.
8. Bruner J., Taub L. J. *Physiol.*, Paris, **56**, 306—311, 1964.
9. Bruner J., Taub L. *Nature*, **210**, 37—39, 1966.
10. Bullock T. H., Horridge G. A. In: *Structure and function in nervous systems of invertebrates*. San-Fransisco: Freeman, 1965.
11. Horn G. *Nature*, **215**, 707—711, 1967.
12. Murphy R. K., Matsumoto S. G. *Science*, **191**, 4227, 564—566, 1977.

წიგმების დინამიკა მოლუსკის ნეირონებში

პ. შარვაშიანი, ნ. თავხელიძე

საქართველოს სსრ მეცნიერებათა აკადემიის კიბერნეტიკის ინსტიტუტი, თბილისი

რეზიუმე

შესწავლილ იქნა მიჩვევის ფენომენი ვაზის ლოკოკინას ნეირონებში უჯრედშიგა გალიზიანებაზე. გამოირკვა, რომ მიჩვევა დამოკიდებულია როგორც გამლიზიანებელ იმპულსთა ძალაზე, ისე მათ სიხშირეზე. იმპულსთა ძალის მომატებით მიჩვევისათვის საჭირო დრო იზრდება, ხოლო სიხშირის გაზრდა მიჩვევას აჩქარებს. პეისმეკერულ და ჩუმ ნეირონებში მიჩვევის დინამიკა სხვადა-

სხვა. პეისმეკერული ნეირონები გაცილებით გვიან ეჩვენებიან ერთისა და იმავე ძალისა და სიხშირის გამლიზიანებელს, ვიდრე ჩუმი უჯრედები. ნაჩვენებია, რომ ლოკოკინას ნეირონებში მიჩვევა მრავალკომპონენტური პროცესია, რომლის ერთერთ უმნიშვნელოვანეს რგოლს, შესაძლოა, წარმოადგენდეს ნეირონის მემბრანაზე ტრიგერული ზონის გადაადგილება.

DYNAMICS OF HABITUATION IN MOLLUSCAN NEURONS

B. B. PARTSVANIA, N. N. TAVKHELIDZE

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

Summary

Habituation to intracellular stimuli was studied in *Helix pomatia* neurons. Habituation was shown to depend both on the intensity and frequency of the stimulating pulses. Increase in the strength of stimuli results in an increase of habituation time, while an increase in the frequency promotes habituation. In pacemaker and silent cells the habituation dynamics is different. The former habituate to the stimuli of one and the same intensity and frequency much later than the latter. It is concluded that in the molluscan neurons habituation is a policomponent process where the most important link seems to be the displacement of the trigger zone on the neuron membrane.

ФУНКЦИОНАЛЬНАЯ МОРФОЛОГИЯ ЛЕГКИХ У БОЛЬНЫХ МИТРАЛЬНЫМ СТЕНОЗОМ ПОСЛЕ ГЕПАРИНОТЕРАПИИ

Н. С. Дурмишидзе

*Институт экспериментальной морфологии им. А. Н. Натишвили АН ГССР,
Тбилиси*

Поступила в редакцию 18.9.1977

В работе проведен сравнительный анализ изменения ультраструктуры легких у больных в IV—V стадии митрального стеноза после гепаринотерапии и без нее. У больных обеих групп отмечались отек и набухание межальвеолярных перегородок, коллагенизация и фиброз стенки альвеолярных капилляров и септальной стромы.

Электронномикроскопическое исследование позволяет сделать вывод, что гепаринотерапия в течение 2—3 недель до операции уменьшает отек и набухание альвеоло-капиллярной мембраны, препятствует трансудации жидкости в полость альвеолы и улучшает метаболизм фосфолипидов в больших альвеолоцитах. После гепаринотерапии усиливаются фибринолитические свойства эндотелия капилляров, что препятствует внутрисосудистому свертыванию. Совокупность этих факторов в конечном итоге способствует улучшению эффективного газообмена и дыхательной функции легких.

Среди многочисленных исследований, направленных на поиск наиболее эффективных способов улучшения функции легких, особое значение приобретают методы воздействия на капиллярный кровоток в альвеолах.

Одним из важных условий газообмена в альвеолах является проницаемость аэро-гематического барьера, уровень которой в значительной мере определяется степенью гепаринозависимого процесса деполимеризации основного вещества барьера [14].

В литературе имеются данные относительно влияния гепарина на проницаемость стенки капилляра [13], а также его способности улучшать микроциркуляцию [21, 10].

Кровоток в капиллярах легких у больных ревматическими пороками сердца постоянно находится под воздействием ряда факторов, приводящих к гиперкоагуляции и внутрисосудистому свертыванию, и зависит от многочисленных веществ, регулирующих эти процессы. Так, гипоксия паренхимы легкого, неизменно сопутствующая посткапиллярной гипертензии малого круга, влечет за собой стаз и депонирование крови в капиллярах альвеол [18, 4], тем самым способствуя альвеолярному отеку и кровоизлияниям.

Совокупность же этих факторов создает условия повышенного шунтирования венозной крови, снижения сурфактантной активности альвеол [2, 20, 24] и ателектаза [22]. Установлено, что уже при нарушении кровообращения II и III стадии по классификации А. Н. Бакулева и Е. А. Дамир у больных ревматическим митральным пороком сердца вязкость плазмы крови, протекающей через легкие, повышена [15].

Учитывая все сказанное выше, была поставлена задача изучения ультраструктуры эпителия и компонентов стенки капилляров альвеол больных с приобретенными пороками сердца, подвергавшихся до операции гепаринотерапии.

МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ

Исследована ткань язычкового сегмента левого легкого, биопсированного при митральной комиссуротомии, выполненной проф. В. И. Фуфиным в отделении сердечной хирургии Института экспериментальной и клинической хирургии МЗ ГССР. Изучен материал, взятый от 20 больных с выраженным стенозом левого атрио-вентрикулярного отверстия в возрасте от 21—52 лет с давностью заболевания от 4 до 25 лет. Все больные в соответствии с клинической характеристикой и тяжестью течения патологического процесса были отнесены к IV—V стадии заболевания по классификации А. Н. Бакулева и Е. А. Дамир.

Судя по уменьшению жизненной емкости легких, понижению коэффициента использования кислорода, а также по увеличению функционально мертвого пространства, у всех исследуемых имелось отчетливое снижение эффективности альвеолярной вентиляции, ухудшение диффузии кислорода через альвеоло-капиллярную мембрану.

Гепарин применялся у 14 больных до митральной комиссуротомии в дозе 40—70 *ед/кг* в течение 2—3 недель по методике, разработанной в отделении сердечной хирургии Института [16]. Данные сопоставляли с результатами исследования легких 6 больных митральным стенозом, не получавших гепарин.

Митральная комиссуротомия выполнялась закрытым методом. Условия премедикации, вводного и основного наркоза были, как правило, однотипны; к моменту биопсии больные находились под искусственной вентиляцией не менее 1 часа.

Материал, предназначенный для электронной микроскопии, фиксировали в 2%-ном забуференном растворе четырехокси осмия в течение 3 ч. Ультратонкие срезы получали на микротоме Reichert OmU-2, окрашивали методом двойного контрастирования и изучали в электронном микроскопе Tesla BS-500 при увеличении от 7 до 22 тысяч.

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

У больных, не получавших гепарин до операции, отмечено значительное изменение структуры альвеол, что выражалось в вакуолизации эпителиальных клеток, отеке и набухании межальвеолярных перегородок, коллагенизации и фиброзе стенки альвеолярных капилляров и септальной стромы.

Респираторные альвеолоциты (тип I пневмоцита) были резко набухшие и увеличены в размере, конфигурация их мембран со стороны просвета альвеолы была резко изрезана за счет так называемых «парусообразных» длинных выростов цитоплазмы, которые чаще были сосредоточены вблизи межклеточных соединений. Матрикс цитоплазмы был просветлен и насыщен вакуолями и пузырьками различного размера. Скопление жидкости имелось и в пространстве между клеткой и базальной мембраной альвеолярного эпителия, что приводило к очаговому отслоению респираторных клеток. Нередко обнаруживалось разрыхление и уменьшение электронной плотности, истончение и плазмолиз цитолеммы респираторных клеток (рис. 1).

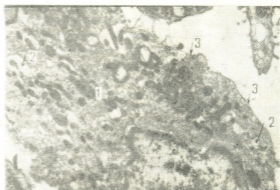
В легких больных, не получавших гепарин до операции, отмечалось значительное изменение ультраструктуры больших альвеолоцитов (тип II пневмоцита). Большие альвеолярные клетки были отечны, увеличены в объеме почти в 2 раза. Многие из просмотренных аль-



Рис. 1. Участок цитоплазмы респираторного альвеолоцита из легкого больного, не получавшего гепарин. Скопление жидкости в виде крупных вакуолей и пузырей (1), очаговый плазмолиз цитолеммы (2), отек субэпителиального пространства (3).
× 18000

веолоцитов были связаны с базальной мембраной лишь истонченной цитоплазматической ножкой. В цитоплазме появлялись крупные полости с электроннооптически светлым содержимым, ограниченные элементарной мембраной (рис. 2).

Рис. 2. Большая альвеолярная клетка из легкого больного, не получавшего гепарин. Значительное сокращение числа осмиофильных телец (1), вакуолизация (2), много лизосомоподобных гранул. Апоикальная поверхность лишена микроворсинок (3). × 18000



Вакуолярный компонент пластинчатого комплекса и цистерны цитоплазматической сети подвергались гидролической дистрофии. Количество митохондрий резко сокращалось, кристы в них были дезинтегрированы. В больших альвеолоцитах, в отличие от респираторных, было много жировых капель и вакуолей, заполненных веществом липидной природы. Особо следует отметить обеднение цитоплазмы больших альвеолярных клеток пластинчатыми тельцами, что сопровождалось увеличением содержания лизосом различной степени зрелости и цитосом (рис. 2). Понижалась не только электронная плотность пластинчатых структур, но уменьшались слоистость и количество отдельных мембран. Многие из них были заключены в крупные полости. На обзорных снимках наблюдалась миграция пластинчатых телец, а также отслоение отдельных разрушенных больших альвеолоцитов в полость альвеолы, заполненной трансудатом.

В межальвеолярных перегородках отмечалось значительное скоп-

ление ретикулярных и уменьшение содержания эластических волокон, многие из которых были гомогенизированы.

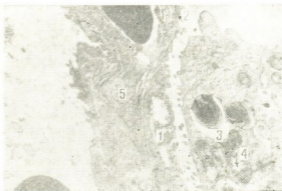
В большинстве просмотренных капилляров эндотелий не имел характерных истончений, вся клетка была равномерно отечной и набухшей. Пиноцитозные пузырьки имелись лишь вдоль люминальной поверхности.

Просвет капилляра чаще был расширен и заполнен склеенными эритроцитами и тромбоцитами. Особенно изменен базальный слой капилляров. Основное вещество было уплотнено, содержание фибриллярных структур увеличено за счет скопления коллагена. Септальное пространство также было заполнено грубыми пучками коллагена.

У больных, получавших гепарин до операции, обнаружен в общем аналогичный характер изменений аэрогематического барьера, коллагенизация и фиброз септального пространства.

Рис. 3. Участок аэро-гематического барьера легкого больного, получавшего гепарин до операции. В респираторном альвеолоците уменьшение отека (1), видны истонченные участки цитоплазмы (2); в большом альвеолоците содержатся пластинчатые тельца (3), митохондрии характерной структуры (4); в септальном пространстве — уплотнение основного вещества (5).

× 18000



Однако в отличие от предыдущей группы у больных, получавших до операции гепарин, отмечались положительные сдвиги изменений в ультраструктуре клеток альвеолярной выстилки. Пневмоциты

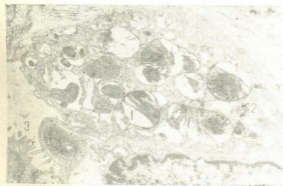


Рис. 4. Большой альвеолоцит из легкого больного, получавшего гепарин до операции. В цитоплазме много пластинчатых телец (1), рибосом и полисом (2), на апикальной поверхности цитоплазмы имеются микроворсинки (3). × 18000

I типа были менее отечны, люминальная поверхность непрерывная, гладкая, с многочисленными пиноцитозными пузырьками вдоль плазмолеммы. Цитоплазматические отростки, так называемая «вуаль» респираторных клеток, имели характерные истончения, которые наблюдались и в смежных участках цитоплазмы эндотелиальной клетки альвеолярных капилляров.



В респираторных альвеолоцитах было меньше крупных вакуолей с электроннооптически прозрачным содержимым. Субэпителиальное пространство лучше просматривалось из-за уменьшения отека и уплотнения подлежащей базальной мембраны альвеолярного эпителия. Пневмоциты II типа в большинстве просмотренных альвеол имели более плотный цитоплазматический матрикс, а их связь с базальной мембраной определялась в виде широкого основания. Количество пластинчатых осмиофильных телец в этих клетках возрастало по сравнению с контрольным материалом, одновременно уменьшалось содержание и плотность лизосом и липидных капель (рис. 3). Миелоноподобные структуры пластинчатых телец располагались в виде сравнительно регулярных concentрических кругов преимущественно в апикальной зоне клетки, нередко непосредственно под плазмолеммой. В цитоплазме отчетливо дифференцировались элементы пластинчатого комплекса и митохондрии, сосредоточенные вблизи осмиофильных телец (рис. 4).

В отличие от больных, не подвергавшихся гепаринотерапии, у больных, получавших гепарин до операции, в альвеолах уменьшалось количество транссудата, в котором, как правило, отсутствовали форменные элементы крови. На уменьшение интрамурального и интерстициального отека легких указывала также меньшая гидрофильность основного вещества базальной мембраны альвеол, капилляров и межальвеолярных перегородок. В то же время содержание, плотность и характер распределения коллагеновых волокон в септальном пространстве и базальном слое капилляров не отличались от таковых в материале больных, не подвергавшихся гепаринотерапии.

В просвете капилляров реже встречались агрегированные эритроциты и тромбоциты; непрерывность и целостность эндотелиоцитов, а также свойственные им истончения маргинальной части цитоплазмы выявлялись на большом протяжении. Таких капилляров было немало, что свидетельствовало об определенном улучшении условий кровотока в альвеолах.

ОБСУЖДЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ

Исходя из данных проведенного наблюдения, у больных с выраженным митральным стенозом в ультраструктуре легких ведущими являются изменения, ухудшающие условия диффузии кислорода через альвеоло-капиллярную мембрану вследствие гемодинамических нарушений в большом и малом круге кровообращения.

Данные литературы [9, 3, 1, 23] и наши наблюдения позволяют допустить, что снижение диффузионной способности легких происходит за счет перестройки респираторных клеток, эндотелиального и базального слоя капилляров, утолщения септального пространства. Все это ведет к разобщению капилляров и альвеол и затрудняет газообмен.

Уменьшение дистрофических изменений эндотелия, непрерывность и целостность плазмолеммы эндотелиоцитов в капиллярах альвеол у больных, получавших гепарин, способствует восстановлению фибринолитических свойств эндотелиального покрова [19], так как нарушение целостности эндотелия и агрегация эритроцитов сопровождаются выделением в кровь факторов свертывания, затрудняя тем самым кровоток в капиллярах и ухудшая трофику соответствующих участков ткани [7].

Гепаринотерапия в течение 2—3 недель до оперативного вмешательства сократила отек основного вещества мукополисахаридной природы, входящего в состав альвеоло-капиллярной мембраны. Этот факт можно объяснить ингибирующим влиянием гепарина на процесс

деполимеризации гиалуроновой кислоты, определяющей степень гидрофильности основного вещества [17, 13].

Известно также, что гепарин активирует липопротеидную содержащуюся в большом количестве в пневмоцитах II типа [5, 6, 11]. Учитывая данные об участии липопротеидной липазы в синтезе фосфолипидов сурфактанта, становится понятным некоторое увеличение содержания пластинчатых телец в больших альвеолах у больных, получавших гепарин. У них же в просвете большинства просматриваемых капилляров отсутствовали агрегированные форменные элементы крови, а также эритроциты, имеющие пристеночное расположение. Установлено, что под влиянием гепарина электрофоретические свойства эритроцитов изменяются вследствие увеличения их электрокинетического потенциала [8, 12]. По мнению А. М. Чернух с соавторами [17] такие эритроциты утрачивают способность к склеиванию. Хондроитинсульфат, близкий по структуре к гепарину, оказывает сходное действие [10]. Предполагается, что этот эффект связан с отрицательным зарядом веществ, которые содержат сульфогруппы.

Следует отметить также, что функция внешнего дыхания у больных, получавших гепарин, улучшалась, повышался коэффициент потребления кислорода, реже развивался отек легких, на ЭКГ уменьшались признаки дистрофии миокарда правого желудочка.

Учитывая данные литературы и результаты собственных наблюдений, можно заключить следующее: во-первых, гепарин, регулируя проницаемость основного вещества базальных мембран, уменьшает отек и набухание альвеоло-капиллярной мембраны, препятствует трансудации жидкости в полость альвеолы и улучшает метаболизм фосфолипидов в больших альвеолах; во-вторых, усиливая антикоагулянтные свойства эндотелия капилляров, гепарин уменьшает возможность внутрисосудистого свертывания, и, следовательно, улучшает кровоток в альвеолярных капиллярах. Совокупность этих явлений улучшает вентиляцию альвеол и диффузию кислорода, что и подтвердили данные о состоянии функции внешнего дыхания и газообмена в легких больных, получавших гепарин.

Результаты электронномикроскопического исследования позволяют сделать вывод, что применение гепарина у больных митральным стенозом значительно повышает проницаемость альвеоло-капиллярной мембраны легких, уменьшает деструктивные изменения в респираторных клетках, что в конечном итоге способствует улучшению дыхательной функции легких.

ЛИТЕРАТУРА

1. Бисярин Ю. В. Субмикроскопические изменения аэро-гематического барьера легких при митральном стенозе. Автореф. канд. дисс., Львов, 1975.
2. Бураковский В. И., Рудаев Я. Л. Осложнения при операциях на открытом сердце, «Медицина», М., 1972.
3. Есипова И. К. В сб.: Очерки по гемодинамической перестройке сосудистой стенки, «Медицина», М., 1974, 298—304.
4. Есипова И. К., Кауфман О. Я., Крючкова Г. С. В сб.: Очерки по гемодинамической перестройке сосудистой стенки, «Медицина», М., 1974, 262—297.
5. Зильбер А. П. Клиническая физиология для анестезиологов, «Медицина», М., 1977, 74—90.
6. Иичина В. И. Кардиология, 3, 126—129, 1978.
7. Кузник Б. И., Скипетров В. П. Форменные элементы крови, сосудистая стенка, гемостаз и тромбоз, «Медицина», М., 1974.
8. Кузник Б. И., Русяев В. Р. Проблемы гематологии, 3, 50—54, 1974.



9. Красиљникова И. П. Посткапиллярная гипертония малого круга кровообращения при различной патологии сердца. Автореф. докт. дисс., Волгоград, 1971.
10. Лакин К. М., Овнатанова М. С. Кардиология, 5, 79—82, 1977.
11. Леви Г. Я., Шереметьев Ю. Я. Кардиология, 3, 124—125, 1978.
12. Павловский Д. П. Тер. арх., 3, 56—61, 1975.
13. Росин Я. Л. Физиология гистогематических барьеров, «Медицина», М., 1977.
14. Соболева А. Д., Антипчук Ю. П. В сб.: Гистофизиология соединительной ткани, Новосибирск, 85—87, 1972.
15. Соловьев Г. М. Кардиология, 5, 5—8, 1977.
16. Фуфин В. И., Мачабели М. С., Иоселиани Г. Д. Матер. I конференции кардиологов Латв. ССР, Рига, 4, 1974, 56—62.
17. Чернух А. М., Александров П. Н., Алексеев О. В. Микроциркуляция, «Медицина», М., 1975.
18. Bailis J. U., Cox W. D., Pifarre R. Surg. Forum, 19, 205—206, 1969.
19. Bates D. V., Macklem P. T., Christie L. V. Respiratory Function in Disease. Philadelphia, Saunders Co, 1971.
20. Bergofsky H., Holtzman J. Circul. Res., 7, 506—509, 1967.
21. Löfström B., Zederfeldt B. Acta chir. Scand., 116, 163—167, 1959.
22. Pattle R. E., Schook C., Battensby Y., But J. Anaesthesia, 44, 11, 1119—1127, 1972.
23. Strotta P., Gardelino G., Garbagni R. Bull. Physiol. pathol. Resp., 4, 809—814, 1968.
24. Wilson J. W. Surgical Clinics of North America, 54, 1203—1208, 1974.

მიტრალური სტენოზით დაავადებულთა ფილტვის ფუნქციური უკრფოლობა ჰეპარინოთერაპიის შემდეგ

ნ. ლომიშიძე

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

რ ე ზ ი ე მ ე

ჩატარებულია მიტრალური სტენოზის მე-4—5 სტადიით დაავადებულთა ფილტვის შედარებითი ულტრასტრუქტურული ანალიზი ჰეპარინოთერაპიის შემდეგ და მის გარეშე. ორივე ჯგუფის ავადმყოფებს აღენიშნებოდათ ალვეოლებს შორის ძვიდეების შეშუპება, ალვეოლური კაპილარებისა და სეპტალური სტრომის კოლაგენიზაცია და ფიბროზი.

ელექტრონული მიკროსკოპიის საფუძველზე შეიძლება დავასკვნათ, რომ თუ მიტრალურ კომისუროტომიამდე 2—3 კვირის განმავლობაში ჩატარდა ჰეპარინოთერაპია, ეს ამცირებს ალვეოლო-კაპილარული მემბრანის შეშუპებას, ხელს უშლის სითხის ტრანსუდაციის ალვეოლში და აუმჯობესებს დიდ ალვეოლოციტებში ფოსფოლიპიდების ცვლას. ჰეპარინოთერაპია აძლიერებს კაპილარების ენდოთელის ფიბრინოლიზურ თვისებებს, რაც აფერხებს კაპილარებში სისხლის შედედებას.

ყოველივე ამის შემდეგ უმჯობესდება გზათა ცვლა და ფილტვის სუნთქვითი ფუნქცია.

FUNCTIONAL MORPHOLOGY OF LUNGS WITH MITRAL STENOSIS AFTER HEPARINE THERAPY OF PATIENTS

N. S. DURMISHIDZE

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



S u m m a r y

Comparative analysis of changes in the ultrastructure of lungs in patients with mitral stenosis of IV—V stages was carried out after and without heparine therapy. Oedema and swelling of interalveolar septa, callogenization and fibrosis of the walls of alveolar capillaries and septal stroma were observed in the patients of both groups.

Electron microscopic investigations allow to draw a conclusion that heparine therapy for 2—3 weeks prior to surgery decreases oedema and swelling of alveolo-cappilar membrane preventing the liquid transsudation into the alveolar cavity and improving the metabolism of phospholipids in the large alveolocytes. Following heparine therapy fibrinolytic properties of the endothelium of capillaries increase preventing intravascular clotting. The combination of these factors promotes effective gas-exchange and respiratory function of the lungs!

УДК 612.015.12.087.4; 543.544

БИОХИМИЯ

РАСПРЕДЕЛЕНИЕ АКТИВНОСТИ 3',5'-АМФ-ФОСФОДИЭСТЕРАЗЫ (ФДЭ) В МОЗГОВОЙ ТКАНИ И ИЗУЧЕНИЕ ВЛИЯНИЯ ПСИХОТРОПНЫХ ВЕЩЕСТВ НА ЕЕ АКТИВНОСТЬ

Т. А. Джалишвили, В. Н. Чикваидзе

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

Поступила в редакцию 26.7.1977

Изучена активность ФДЭ в разных отделах головного мозга крыс (мозжечок, продолговатый и средний мозг, кора больших полушарий), субклеточных структурах (митохондрии, синаптосомы) и в фракциях, обогащенных клетками глии и нейронов. Высокая удельная активность растворимой формы ФДЭ обнаружена в коре больших полушарий, а связанной формы — в синаптосомальных и глиальных фракциях. Изучено также влияние психотропных веществ (аминазина, резерпина, парната и пардила) на ее активность. Психотропные вещества (аминазин и пардил) избирательно влияют на активность связанной формы ФДЭ.

В настоящее время известен только один путь инактивирования 3',5'-АМФ в организме животных и растений — высокоспецифичной 3',5'-АМФ-фосфодиэстеразой (ФДЭ), гидролизующей 3'-связь 3',5'-АМФ до 5-АМФ. В организме животных обнаружено семь изоэнзимов ФДЭ в двух формах: связанная с мембранами и растворимая в цитоплазме [6]. Мозговая ткань характеризуется самой высокой активностью ФДЭ. При изучении внутриклеточного распределения ФДЭ в мозговой ткани установлено, что митохондрии и нервные окончания содержат сравнительно высокую удельную активность ФДЭ [7, 9]. Надо отметить, что до настоящего времени не исследована ФДЭ активность в глиальных и нейрональных клетках.

В работе приводятся результаты исследования распределения ФДЭ в мозговой ткани и влияние психотропных веществ на ее активность.

МЕТОДИКА

Подопытными животными были растущие белые крысы весом 180—200 г. Отдельные участки головного мозга крыс брались по Гловинскому [8]. Активность ФДЭ измеряли по прописи Батчера и Садерленда [5]. Субклеточные фракции получали по методу Уайттекера [3]. Для получения обогащенных фракций был применен метод Бломстранда и Хамбергера [4]. Полученные обогащенные фракции проверялись цитологически. Субклеточные фракции, а также фракции, обогащенные нейронами и клетками, служили источником связанной формы ФДЭ.

Для получения растворимой формы ФДЭ гомогенат мозговой ткани центрифугировали один час при 105 000 g и надосадочную жидкость брали для определения растворимой формы ФДЭ. Количество белка определяли по Лоури [10]. Для изучения влияния психотропных веществ на активность ФДЭ в инкубационной среде их вносили в количестве



0,1 мМ или 1,0 мМ. В контрольных опытах инкубационная среда не содержала психотропных веществ. Полученные результаты обрабатывались по Ойвину [1].

РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

В опытах изучения распределения ФДЭ активности в мозговой ткани (табл. 1) более высокая удельная активность ($3,68 \pm 0,14$) растворимой формы ФДЭ была обнаружена в коре больших полушарий. Из субклеточных фракций синаптосомальная фракция характеризуется самой высокой удельной активностью ($2,28 \pm 0,09$) связанной формы ФДЭ. Полученные нами результаты распределения активности растворимой и связанной формы ФДЭ совпадают с исследованиями Чанга [6] и Де Робертиса [7].

Таблица 1
Распределение активности ФДЭ в мозговой ткани крыс
(среднее из 8 определений)

Форма ФДЭ	Источники фермента ФДЭ	Активность ФДЭ* $M \pm m$ мкг ф/мг белка/1 мин
Растворимая	Гомогенат	$1,60 \pm 0,07$
	Мозжечок	$0,98 \pm 0,05$
	Продолговатый мозг	$1,18 \pm 0,06$
	Средний мозг	$2,31 \pm 0,12$
	Кора больших полушарий	$3,68 \pm 0,14$
Связанная	Миелин	$0,087 \pm 0,01$
	Митохондрии	$0,57 \pm 0,12$
	Синаптосомы	$2,28 \pm 0,09$
	Глава	$2,36 \pm 0,02$
	Нейрон	$0,84 \pm 0,06$

При изучении ФДЭ активности в фракциях, обогащенных клетками глии и нейронов, выявлен следующий факт. В фракции, обогащенной клетками глии, активность ФДЭ в три раза больше, чем во фракции нейронов. При этом надо отметить, что нейроны обогащенной фракции лишены нервных окончаний и представлены в виде сомы, а клетки глии остаются более или менее неповрежденными (рис. 1, 2). Электронно-микроскопическими исследованиями не удалось обнаружить синаптосомы во фракции клеток глии, а фракции нейронов содержали синаптосомы в ничтожном количестве*.

Исходя из существующих соображений [2] о том, что клетки глии представляют собой точки приложения действия нейротропных веществ,

* Авторы данной работы приносят глубокую благодарность заведующему кафедрой биохимии ТГУ, доц. Н. Г. Алексидзе и сотр. отд. нейроморфологии Института физиологии АН ГССР, проф. И. К. Сванидзе, д. б. н. Купарадзе М. Р. и к. б. н. Г. И. Кикадзе за помощь, оказанную при получении и проверке чистоты и сохранности фракций, обогащенных клетками глии и нейронов.



мы исследовали влияние психотропных веществ (аминазина, резерпина, парната и нардила) на ФДЭ активность субклеточных фракций мозговой ткани (миелин, митохондрии, синапсомы) и фракций, обогащенных клетками глии и нейронов.

Таблица 2
Влияние аминазина на активность ФДЭ (среднее из 6 определений)

Варианты	Контроль M±m	Аминазин 0,1мМ M±m	Изменение в %	P	Аминазин 1,0 мМ M±m	Изменение в %	P
Мозжечок	0,950±0,020	0,890±0,330	-6,3	<0,1	0,630±0,013	-34	>0,001
Продолговатый мозг	1,230±0,020	0,890±0,030	-28	>0,001	0,730±0,005	-41	>0,001
Средний мозг	2,600±0,050	1,600±0,120	-38	>0,001	1,080±0,080	-58	>0,001
Кора больших полушарий	3,500±0,100	2,500±0,200	-29	<0,001	1,200±0,011	-66	>0,001
Миелин	0,087±0,010	0,095±0,020	+9,2	>0,5	0,072±0,005	-17	>0,2
Митохондрии	0,570±0,120	0,520±0,030	-8,8	>0,5	0,280±0,030	-4,1	>0,02
Синапсомы	2,280±0,090	2,370±0,100	+4	<0,5	2,180±0,060	-4,4	>0,2
Глия	2,360±0,020	2,420±0,030	+2,5	<0,2	2,520±0,020	+6,8	<0,001
Нейрон	0,840±0,060	0,790±0,040	-6	>0,2	0,660±0,030	-21,4	>0,01

Данные влияния депрессантов аминазина (табл. 2) и резерпина (табл. 3) показали, что аминазин при всех исследуемых нами количествах тормозил активность растворимой формы ФДЭ, тогда как резерпин практически не оказывал влияния. В субклеточных фракциях ни резерпин, ни аминазин в количестве 0,1 мМ не изменяли статистически

Таблица 3
Влияние резерпина на активность ФДЭ
(среднее из 6 определений)

Варианты	Контроль M±m	Резерпин 0,1мМ M±m	Изменение в %	P	Резерпин 1,0 мМ M±m	Изменение в %	P
Мозжечок	0,520±0,050	0,810±0,100	-12	>0,2	0,820±0,090	-11	>0,2
Продолговатый мозг	1,140±0,080	1,140±0,120	—	—	1,170±0,070	+2,6	>0,2
Средний мозг	2,290±0,120	2,260±0,080	-1,3	>0,5	2,260±0,140	-1,3	>0,5
Кора больших полушарий	3,920±0,050	3,670±0,160	-6,4	>0,2	3,700±0,140	+5,6	>0,2
Миелин	0,087±0,010	0,070±0,01	-19,6	>0,2	0,040±0,020	-54	>0,05
Митохондрии	0,570±0,120	0,540±0,08	-5,3	>0,2	0,500±0,070	-12,3	>0,5
Синапсомы	2,280±0,090	2,220±0,120	-2,6	>0,5	2,100±0,080	-7,9	>0,1
Глия	2,360±0,020	2,370±0,060	+0,4	>0,5	2,370±0,120	+0,4	>0,5
Нейрон	0,840±0,060	0,860±0,090	+2,4	>0,5	0,830±0,060	-1,2	>0,5

достоверно активность ФДЭ, в то время как в митохондриальной фракции амниазин (1 мМ) ингибировал ее на 41%, а в миелоиновой резерпин (1 мМ) тормозил на 54%.

Таблица 4

Влияние парната на активность ФДЭ
(среднее из 6 определений)

Варианты	Контроль М±м	Парнат 0,1 мМ М±м	Изменение в %	Р	Парнат 1,0 мМ М±м	Изменение в %	Р
Мозжечок	1,010±0,060	0,980±0,040	-3	>0,5	0,960±0,070	-5	>0,5
Продолговатый мозг	1,080±0,070	1,140±0,020	+5,6	>0,2	1,020±0,100	-5,6	>0,5
Средний мозг	2,410±0,210	2,440±0,160	+1,2	>0,5	2,360±0,050	-2,1	>0,5
Кора больших полушарий	3,440±0,260	3,360±0,140	-2,3	>0,5	3,380±0,220	-1,7	>0,5
Миелин	0,087±0,010	0,078±0,008	-10,3	>0,1	0,063±0,016	-27,6	>0,2
Митохондрии	0,570±0,120	0,560±0,070	-1,8	>0,5	0,560±0,080	-1,8	>0,5
Синапсомы	2,280±0,090	2,180±0,100	-4,4	0,2	1,980±0,120	-13,2	>0,05
Глия	2,360±0,020	2,420±0,080	+2,4	>0,5	2,380±0,120	+0,8	>0,5
Нейрон	0,840±0,06	0,860±0,030	+2,4	>0,5	0,850±0,050	+1,2	>0,5

В дальнейшей серии опытов исследовали влияние депрессантов на активность ФДЭ в фракциях, обогащенных нейронами и клетками глии. Было установлено, что амниазин активизирует ФДЭ активности в глиальной фракции, а в нейрональной — напротив, тормозит. Резерпин не оказал влияния на активность ФДЭ.

Таблица 5

Влияние нардила на активность ФДЭ
(среднее из 6 определений)

Варианты	Контроль М±м	Нардил 0,1 мМ М±м	Изменение в %	Р	Нардил 1,0 мМ М±м	Изменение в %	Р
Мозжечок	1,140±0,08	1,340±0,180	+17,5	>0,2	1,260±0,110	+10,5	>0,5
Продолговатый мозг	1,310±0,140	1,480±0,160	+13	>0,2	1,510±0,120	+15,3	>0,2
Средний мозг	2,170±0,160	2,080±0,120	-4,2	>0,5	1,980±0,07	-8,8	>0,5
Кора больших полушарий	3,840±0,120	3,610±0,130	-6	>0,2	3,500±0,210	-8,9	>0,1
Миелин	0,087±0,010	0,050±0,008	-65,5	>0,05	0,012±0,003	-86,2	>0,001
Митохондрии	0,570±0,120	0,490±0,070	-14	>0,5	0,370±0,060	-35	>0,1
Синапсомы	2,280±0,070	1,930±0,080	-15,4	>0,01	1,760±0,120	-22,8	>0,001
Глия	2,360±0,020	2,400±0,110	+1,7	>0,5	2,420±0,150	+2,5	>0,5
Нейрон	0,840±0,06	0,830±0,08	-1,2	>0,5	0,830±0,07	-1,2	>0,5



Антидепрессанты (табл. 4, 5) нардил и парнат также оказывают избирательное влияние на активность ФДЭ. Аналогично парнату (табл. 4) практически не влияет на активность растворимой формы ФДЭ в разных отделах головного мозга крыс. Он не влияет на активность и связанной формы как в субклеточных фракциях, так и в клетках глии и нейронов, за исключением митохондриальной — 1,0 мМ парната тормозил на 13,2%. Другой антидепрессант — нардил (табл. 5) характеризуется более сложным и избирательным влиянием на активность связанной формы ФДЭ. Нардил в количестве как 0,1 мМ, так и 1,0 мМ статистически достоверно ингибирует активность ФДЭ в миелиновой (—65% и —86,3%) и в синапсомальной (—15,4% и —22,8%) фракциях. Что касается его влияния на растворимую форму ФДЭ, то нардил, аналогично парнату и резерпину, практически не изменяет активность ее растворимой формы ни в одном исследованном участке головного мозга. Нардил не оказал влияние и на связанную форму в фракциях, обогащенных клетками глии и нейронов.

Суммируя полученные результаты, мы выяснили, что изученные нами психотропные вещества, в частности резерпин и парнат, практически не влияют на активность ФДЭ, а аминазин и нардил избирательно действуют на ее связанную форму. Эти результаты говорят о том, что в разных субклеточных образованиях находятся разные изоэнзимы ФДЭ и регуляция ее активности зависит от специфичности протениновой мембраны, с которой она связана.

При анализе данных изучения распределения ФДЭ активности в мозговой ткани выясняется, что кора больших полушарий характеризуется более высокой удельной активностью ФДЭ, чем все остальные участки головного мозга крыс. Из всех субклеточных образований синапсомомы содержат самую высокую удельную активность связанной формы ФДЭ. Обнаруженный факт наличия в клетках глии высокой активности ФДЭ ключевого фермента в обмене 3',5'-АМФ говорит о важной и на сегодняшний день неизвестной ее функции в этих клетках.

ЛИТЕРАТУРА

1. Ойвин И. А. Патол. физиология и эксперим. терапия, 4, 76—86, 1959.
2. Ройтбак А. И. В сб.: Интегративная деятельность нервной системы в норме и патологии, «Единица», М., 79—96, 1968.
3. Уйттеикер В. П. Биохимия и функция нервной системы, «Мир», Л., 1965, 207—219.
4. Blomstrand C. and Hamberger A. J. Neurochemistry, 16, 1401—1407, 1969.
5. Butcher R. W. and Sutherland E. W. J. Biol. Chem., 273, 1244—1248, 1962.
6. Cheung W. Y. Role of Cyclic AMP in Cell Function, Raven Press, New York, 51—65, 1970.
7. De Robertis E., Rodrigues G., De Lores Arnaiz M., Butcher R. W. and Sutherland E. W. J. Biol. Chem., 242, 3487—3493, 1967.
8. Glowinski J., Iversen L. L. J. Neurochemistry, 28, 655—669, 1966.
9. Florendo N. T., Barnett R. J., Greengard P. Science, 173, 745—748, 1971.
10. Lowry O. H., Rosebrough N. J., Farr A. L., Randall R. J. J. Biol. Chem., 193, 265—275, 1951.

თავის ტვინში 3,5-ამფ-ფოსფოდიესტერაზის (ფფე) აქტივობის
ზანაწილება და ფსიქოტროპული ნივთიერებების გავლენა
მის აქტივობაზე



თ. ჯალიაშვილი, ვ. ჩიკვაიძე

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

რ ე ზ ი უ მ ე

ფფე აქტივობა შესწავლილი იყო ვირთაგვის თავის ტვინის სხვადასხვა უბ-
ნებში (ნათხეში, მოგრძო, შუა ტვინი, ქერქი), სუბუჯრედულ წარმონაქმნებში
(მიელინი, მიტოქონდრიები, სინაპტოსომები) და გლიისა და ნეირონების უჯ-
რედებით გამდიდრებულ ფრაქციებში. შესწავლილ იქნა აგრეთვე ფსიქოტრო-
პული ნივთიერებების (ამინაზინი, რეზერპინი, პარნატი, ნარდილი) გავლენა
ორივე ფორმის ფფე აქტივობაზე.

გამოირკვა, რომ ვირთაგვის თავის ტვინის ქერქი ხასიათდება ფფე ხსნადი
ფორმის, ხოლო სინაპტოსომებისა და გლიის ფრაქციები ფფე შეკავშირებულა
ფორმის მაღალი აქტივობებით.

ამინაზინი და ნარდილი სუბუჯრედულ წარმონაქმნებში შერჩევითად მოქ-
მედებენ ფფე აქტივობაზე, ხოლო რეზერპინი და პარნატი ფფე აქტივობაზე
გავლენას არ ახდენენ. მიღებული მონაცემები მიუთითებს ფფე მნიშვნელოვან
ფუნქციაზე გლიის უჯრედებში და სინაპტოსომებში.

THE DISTRIBUTION OF 3,5'-AMP-PHOSPHODIESTERASE (PDE) ACTIVITY IN THE BRAIN TISSUE AND THE INFLUENCE OF PSYCHOTROPIC DRUGS ON ITS ACTIVITY

T. A. JALIAŠVILI, V. N. CHIKVAIDZE

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

S u m m a r y

The activity of PDE was determined in the various brain regions (ce-
rebellum, medulla oblongata, midbrain, cortex), in the subcellular fractions
(myelin, mitochondria, synaptosome) and in the nerve and the glial cell-en-
riched fractions. The influence of the psychotropic drugs (aminazine, reserpine,
parnate, nardil) on the activity of both forms of PDE was examined.

Analysis of the results has revealed that the most active PDE—the so-
luble form is in the cortex and the linked form in the synaptosomal and
glial cell-enriched fraction. Aminazine and nardil selectively influence PDE
activity in the subcellular fractions. Reserpine and parnate have no effect
on PDE activity.

The obtained results indicate an important function of PDE in the glial
cell-enriched fraction and synaptosomes.

УДК 577.153.35

БИОХИМИЯ

КИНЕТИЧЕСКИЕ СВОЙСТВА Mg^{2+} , Ca^{2+} -АТФазы МИКРОСОМ И ЕГО АКТИВИРОВАНИЕ ЭКЗОГЕННОЙ 3'5'-АМФ ЗАВИСИМОЙ ПРОТЕИНКИНАЗОЙ

Д. Г. Микеладзе, Д. Г. Качарава

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

Поступила в редакцию 29.6.1977

Экзогенная 3'5'-АМФ зависимая протеинкиназа увеличивает Mg^{2+} , Ca^{2+} -АТФазную и Mg^{2+} -АТФазную активности микросомальной фракции мозга. Гистоны, в частности F_{2a} и F_{2b} , ингибируют эти АТФазные активности микросом, причем на кривой накопления продукта обнаруживается лаг-период в начале реакции. Экзогенная 3'5'-АМФ зависимая протеинкиназа снимает тормозящий эффект гистонов на стационарном участке кривой, а также уменьшает лаг-период.

Микросомальная Mg^{2+} , Ca^{2+} -зависимая АТФаза на кривой насыщений субстратом описывается гиперболой, в то время как в присутствии экзогенной протеинкиназы и гистона она показывает сигмоидальную кинетику с промежуточным плато.

Делается вывод, что 3'5'-АМФ зависимая протеинкиназа фосфорилирует блок, связанный с Ca^{2+} -АТФазной системой микросом, вызывает переход одного конформера фермента в другой, вследствие чего увеличивается активный транспорт кальция.

Функциональная активность центральной нервной системы и ее специфические выражения, такие как восприятия и хранение информации, поведенческие акты и т. д., во многом зависят от сдвигов в распределении биогенных аминов в головном мозгу. Эти вещества свое действие оказывают через аденилциклязную систему, и оно выражается в изменении регионального распределения циклического нуклеотида. Установлено также [7], что эффект биогенных аминов может найти свое выражение в медленной гиперполяризации постсинаптической мембраны в результате повышения внутриклеточной концентрации 3'5'-АМФ. Это в свою очередь приводит к активированию протеинкиназных реакций и к фосфорилированию мембранных белков, которые в конечном итоге за счет конформационных перестроек вызывают изменение либо пассивной проницаемости, либо увеличение активного транспорта ионов.

Целью настоящего исследования было изучение участия протеинкиназных реакций в активном транспорте кальция и связи этой реакции с кинетикой Mg^{2+} , Ca^{2+} -зависимой аденозинтрифосфатазой.

МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Объектом исследования служила микросомальная фракция ткани мозга белых крыс, способная активно накапливать ионы каль-

ция. Mg^{2+} , Ca^{2+} -АТФазную активность определяли двумя методами. В первом случае полная инкубационная среда содержала: тристеарилфосфат — 7,4—50 мМ, $MgCl_2$ — 5 мМ, $CaCl_2$ — 80 мкМ, АТФ — 2,5 мМ, ц-АМФ — 10 мкМ и от 70 до 100 мкг белков микросомальной фракции. Инкубирование начинали добавлением фермента и продолжали при 20°C. Реакцию останавливали добавлением равного объема 10%-ного раствора холодного ТХУ и после центрифугирования в супернатанте определяли количество неорганического фосфата по методу Фиске-Суббароу [10]. Во втором случае Mg^{2+} , Ca^{2+} -АТФазную активность определяли спектрофотометрически по убыли НАДН в сопряженной пируваткиназно-лактатдегидрогеназной ферментной системе. Эта система содержала все реагенты в тех же концентрациях, что и в первом случае, и кроме этого 1 мМ НАДН, 1 мМ фосфоэнолпирувата, 4 ед. пируваткиназы и 8 ед. лактатдегидрогеназы. Фоном принимали изменение оптической плотности в отсутствие АТФ и микросом. Следует сказать, что величина фона в обоих случаях была очень маленькой и не превышала 1% от АТФазной активности микросом. Кроме этого ни один из метаболитов Mg^{2+} Ca^{2+} -АТФазной системы не лимитировал скорость пируваткиназных и лактатдегидрогеназных реакций.

3'5'-АМФ зависимую протенинкиназу очищали по методу Джонсона и др. [9]. Полученная протенинкиназа обладала удельной активностью от 4 500 до 10 000 ед на мг белка. Белок определяли микробюретовым методом.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Известно, что микросомальная фракция из головного мозга состоит из везикул цито- и протоплазматических мембран диаметром 100—300 нм [2, 3], способных к аккумуляции кальция. Перенос этого иона через микросомальные мембраны осуществляется Mg^{2+} -зависимой АТФазой и активируется низкими концентрациями кальция [11]. В нашем случае максимальная АТФазная активность наблюдалась при концентрации ионов кальция равной 80 мкМ. Дальнейшее повышение концентрации кальция в инкубационной пробе приводило к уменьшению Ca^{2+} -зависимой АТФазной активности микросом. Поэтому, во всех опытах изучения этого фермента концентрация кальция в инкубационной среде поддерживалась 80 мкМ.

Константа Михаэлиса (K_m) для АТФ, измеренная в координатах Эизенталья и Горниш-Боудена [5], оказалась равной $0,310 \pm 0,025$ мМ, а максимальная скорость (V_{max}) — $0,143 \pm$ мкмоль/мин/мг. В присутствии экзогенной протенинкиназы и 3'5'-АМФ активность суммарной Mg^{2+} , Ca^{2+} -АТФазы возрастала на 151%, Mg^{2+} -АТФазы на 141%, что соответствовало увеличению активного транспорта кальция на 223%. При этом K_m изменялась незначительно и была равной $0,318 \pm 0,019$ мМ, тогда как V_{max} увеличивалась до $0,215 \pm 0,041$ мкмоль/мин/мг.

Известно, что протенинкиназы, активируемые циклическими нуклеотидами, не обладают хорошо выраженной субстратной специфичностью [9] и способны фосфорилировать разные типы белков, в том числе и гистоны. Имея в виду вышесказанное, мы предположили, что внесение в инкубационную среду экзогенного гистона вызовет конкурентное ингибирование за активатор и снятие активирующего эффекта ц-АМФ зависимой протенинкиназы. Однако оказалось, что действие гистонов на АТФазные системы микросом носит сложный характер и не ограни-



чивается простым конкурентным ингибированием. Во-первых, выяснилось, что гистоны сами по себе являются ингибиторами Mg^{2+} , Ca^{2+} -АТФазы и в концентрации 12 μM полностью тормозят эту ферментную систему. Во-вторых, действия гистонов носят довольно хорошо выраженный специфический характер и, как видно из таблицы, ингибирующими свойствами обладают только умеренно богатые лизином и аргини-

Таблица
Действие разных белков на Mg^{2+} , Ca^{2+} -АТФазную активность микросом

Добавленные реагенты	Активность, %
МФ*	100
МФ+4,8 μM суммарного гистона	25
МФ+4,8 μM гистона F _{2a}	19
МФ+4,8 μM гистона F _{2b}	21
МФ+4,8 μM гистона F ₁	98
МФ+4,8 μM гистона F ₃	97
МФ+5,0 μM клупенна	85
МФ+5,0 μM сывороточного альбумина	99
МФ+8,0 μM лизина	99

ном фракции суммарного гистона. Добавление других положительно заряженных белков не приводит к подавлению АТФазной системы микросом. Это свидетельствует о том, что действие гистонов не является следствием простого наложения положительного заряда на мембрану и его

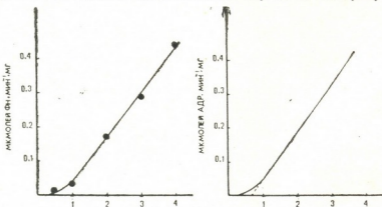


Рис. 1 Кривые накопления продукта Mg^{2+} , Ca^{2+} -АТФазы микросом в присутствии 1,2 μM суммарного гистона: А — ферментативная активность определялась по образованию неорганического фосфата; Б — активность определялась по образованию АДФ в сопряженной пируваткиназной и лактатдегидрогеназной системе

деструктурирования [2]. Кроме того, максимальное ингибирование гистоны вызывают на начальных стадиях ферментативного катализа. На кривой накопления продукта во времени (рис. 1А, Б) обнаруживается ярко выраженный лаг-период в начале реакции, после чего кривая выходит на линейный стационарный участок. Соответственно этому, действие гистона на Mg^{2+} , Ca^{2+} -АТФазу изучалось как на стационарном, так и на предстационарном участках ферментативной реакции.

* МФ — микросомальная фракция

Анализ стационарной кинетики фермента показал, что ингибирование гистонном носит конкурентный по отношению к субстрату характер. В присутствии суммарного гистона кажущаяся константа Михаэлиса равнялась $K_m = 0,492 \pm 0,041$ мМ, а $V_{\max} = 0,142 \pm 0,051$

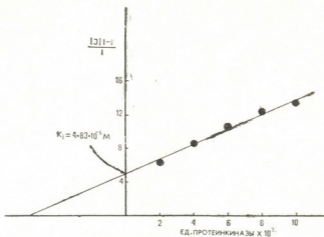


Рис. 2 Зависимость парциального торможения Mg^{2+} , Ca^{2+} -АТФазы гистонном от активности экзогенной протеинкиназы. Концентрация суммарного гистона в среде $[I] = 4,8$ мкМ

$$\left(i - \text{парциальное торможение} = 1 - \frac{V_i}{V} \right)$$

мкмоль/мин/мг. Кроме того, ингибирующее действие гистона на стационарном участке снималось также возрастающей концентрацией $3'5'$ -АМФ зависимой протеинкиназой. Кинетическая кривая в координатах

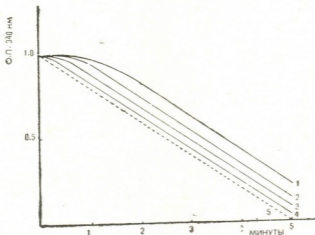


Рис. 3. Изменение лаг-периода в зависимости от активности экзогенной протеинкиназы (концентрация суммарного гистона во всех опытах равнялась $1,2$ мкМ): 1 — активность экзогенной протеинкиназы (ПК) равна 1×10^3 единиц; 2 — активность ПК $= 2 \times 10^3$ единиц; 3 — активность ПК $= 3 \times 10^3$ единиц; 4 — активность ПК $= 6 \times 10^3$ единиц; 5 — линия, параллельная стационарной части кривой (ферментативная активность Mg^{2+} , Ca^{2+} -АТФазы определялась по уменьшению оптической плотности при 340 нм в сопряженной пируваткиназной и лактатдегидрогеназной системе; константы скорости определялись по методу Хетфильда и др. [8])

натах Хантера и Даунса [4] в этом случае носит также конкурентный характер с константой ингибирования $K_i = 4,7 \text{ мкМ}$ (рис. 2), за активный центр активатора, т. е. протеинкиназы. Эти данные подтверждают предположение о существовании белка-мишени в микросомах и его фосфорилировании, которым должно осуществляться активирование Mg^{2+} , Ca^{2+} -АТФазы. Внесенный в инкубационную среду гистон конкурирует с этим белком за активный центр протеинкиназы и снимает его активирующее действие.

Конкурентное взаимодействие гистона и 3'5'-АМФ зависимой протеинкиназы выявляется также на предстационарном участке кривой накопления продукта (рис. 3). Из рисунка видно, что при добавлении к системе с гистоном экзогенной протеинкиназы время полуактивации для выхода кинетической кривой на линейный, стационарный уровень понижается (кривые 1, 2, 3, 4). Уменьшение лаг-периода зависит от удельной активности экзогенной протеинкиназы. Аналогичный график в логарифмических координатах имеет линейный вид. Следовательно, процесс активации зангигированной гистоном реакции подчиняется экспоненциальному закону и соответствующие кажущиеся константы скорости псевдопервого порядка в присутствии разных количеств экзогенной протеинкиназы равны: $k_1 = 0,054 \text{ с}^{-1}$ при активности экзогенной протеинкиназы (ПК) равной 1×10^3 единиц; $k_2 = 0,098 \text{ с}^{-1}$ при активности ПК — 2×10^3 единиц; $k_3 = 0,158 \text{ с}^{-1}$ при активности ПК — 3×10^3 единиц; $k_4 = 0,302 \text{ с}^{-1}$ при активности ПК — 6×10^3 единиц в присутствии $1,2 \text{ мкМ}$ суммарного гистона. Таким образом, повышение количества экзогенной протеинкиназы вызывает пропорциональное повышение скорости зангигированной гистоном реакции, что выражается в уменьшении лаг-периода и в повышении кажущейся константы скорости. Иными словами, протеинкиназа укорачивает время достижения стационарного состояния с помощью облегчения перехода фермента, связанного с гистоном, из неактивной формы в активную.

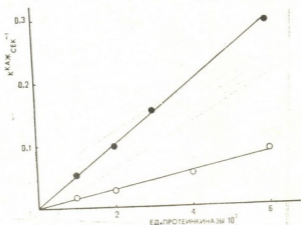


Рис. 4. Зависимость кажущейся константы от активности экзогенной протеинкиназы: ●—● в присутствии $1,2 \text{ мкМ}$ суммарного гистона; ○—○ в присутствии $4,8 \text{ мкМ}$ суммарного гистона

Повышение в пробе гистона, наоборот, уменьшает кажущиеся константы псевдопервого порядка и увеличивает время полуактивации (рис. 4).

Исходя из вышесказанного, можно предположить, что наложение гистоном положительного заряда на микросомальную мембрану при-

водит к изменению состояния АТФазных белков и к подавлению их ферментативной активности. Экзогенная протеинкиназа фосфорилирует связанный с мембраной гистон и, экранировав его положительно заряженные группы, снимает ингибирующее действие; вследствие этого изменяется структурированность мембраны, Mg^{2+}, Ca^{2+} -АТФаза меняет пространственное расположение и реакция выходит на стационарный участок. Поскольку лаг-период и активация фермента на предстационарном участке наблюдаются и в отсутствие экзогенной протеинкиназы, можно предположить эндогенное фосфорилирование гистона и, следовательно, наличие эндогенной протеинкиназы.

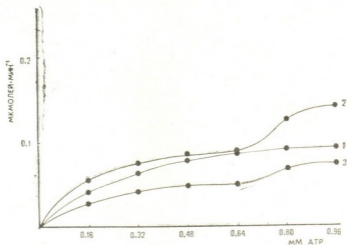


Рис. 5. График зависимости скорости Mg^{2+}, Ca^{2+} -АТФазной реакции от концентрации АТФ (использовались как стационарные, так и предстационарные участки кривой накопления продукта): 1 — в отсутствие гистона и экзогенной протеинкиназы; 2 — в присутствии 2×10^3 единиц экзогенной протеинкиназы; 3 — в присутствии 1,9 мкМ суммарного гистона

И наконец, оказалось, что график зависимости скорости реакции (брались как предстационарные, так и стационарные участки кривых накопления продукта) от концентрации АТФ в присутствии гистона и экзогенной протеинкиназы носит характерный для аллостерических ферментов сигмоидальный вид (рис. 5), в то время как кинетика Mg^{2+}, Ca^{2+} -АТФазы подчиняется простому гиперболическому закону. Из рис. 7 видно, что в обоих случаях при низких концентрациях субстрата уменьшается наклон кривой, которая, увеличиваясь далее, переходит в плато при средних концентрациях АТФ и опять уменьшается при высоких концентрациях субстрата. Соответственно наклону изменяется и коэффициент Хилла, указывающий о числе активных центров фермента. По мнению Тайпелья и Кошланда [12] такая кривая характерна для ферментов, обладающих более чем двумя активными центрами. При низких концентрациях субстрата превалирует отрицательная кооперативная зависимость, а при высоких — положительная. По модели Моно и др. [1] появление промежуточного плато на графике v от S_0 должно быть связано с наличием в системе медленно изомеризующих форм фермента. Последнее предположение, на наш взгляд, является более вероятным, тем более, что кривая накопления продукта АТФазной реакции в присутствии гистона характеризуется лаг-периодом и соответственно медленной изомеризацией неактивной формы фермента в активную.



По мнению Фридена [6] аллостерические ферменты, активность которых медленно изменяется при изменении веществ-регуляторов, препятствуют немедленным изменениям других метаболитов и обеспечивают постоянство взаимодействия разных метаболических путей, использующих общий исходный продукт. Ферментные системы, обладающие такими буферными свойствами, характерны для сложных, метаболических путей.

Таким образом, вышеприведенные данные свидетельствуют о влиянии 3'5'-АМФ зависимых процессов на активный транспорт кальция в нервной ткани. Что же касается ионов Na и K, то в этом случае действие 3'5'-АМФ носит более сложный характер, ибо этот циклический нуклеотид не участвует в эффекте нейротрансмиттеров на Na^+ , K^+ -АТФазу.

ЛИТЕРАТУРА

1. Курганов Б. И. Биологическая химия, ВИНТИ, 8, 57—105, 1975.
2. Левин С. В. Структурные изменения клеточных мембран, «Наука», Л., 1976.
3. Рид Э. Цитология ферментов, «Мир», М., 1971, 246—303.
4. Уэбб Л. Ингибиторы ферментов и метаболизма. «Мир», М., 1966.
5. Eisental R. A., Gornish-Bowden A. Biochem. J., 139, 715—720, 1974.
6. Frieden G. J. Biol. Chem., 242, 4045—4052, 1967.
7. Greengard P. A. Nature, 101—108, 1976.
8. Hatfield G. W., Ray W. J., Umbarger H. E. J. Biol. Chem., 245, 1748—1754, 1970.
9. Jonson E. M., Maeno H., Greengard P. A. J. Biol. Chem., 246, 7731—7739, 1971.
10. Lindberg O., Ernster L. Methods of biochemical analysis, III, 3—21, 1954.
11. Nakamaru Y. J. Biochem., 75, 1129—1133, 1974.
12. Teipel J., Koshland Jr. Biochemistry, 8, 4656—4661, 1969.

მიკროსომული Mg^{2+} , Ca^{2+} -ატფაზის კინეტიკური თვისებები და მისი აქტივირება 3'5'-ამფ დამოკიდებული პროტეინინაზით

დ. მიქელაძე, დ. კაპარაძე

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

რეზიუმე

ნაჩვენებია, რომ ეგზოგენური 3'5'-ამფ დამოკიდებული პროტეინინაზა აქტივებს მიკროსომულ Mg^{2+} , Ca^{2+} -ატფაზას. ჰისტონები, კერძოდ F_{2a} და F_{2b} , იწვევენ Mg^{2+} , Ca^{2+} -ატფაზის ინჰიბირებას. ამ დროს სუბსტრატის დაგროვების მრუდზე რეაქციის დასაწყისში აღინიშნება ლაგ-პერიოდი. ეგზოგენური 3'5'-ამფ დამოკიდებული პროტეინინაზა ხსნის ჰისტონების მაინჰიბირებელ ეფექტს, როგორც მრუდის სტაციონარულ, აგრეთვე პრესტაციონარულ ნაწილში.

მიკროსომული Mg^{2+} , Ca^{2+} -ატფაზის სუბსტრატის გაჯერების მრუდს აქვს პიპერბოლის სახე მაშინ, როდესაც ეგზოგენური პროტეინინაზის ან ჰისტონის თანაობისას მრუდი იღებს სიგმოიდურ, ხასიათს შუალედური პლატოთი.

გამოთქმულია მოსაზრება, რომ 3'5'-ამფ დამოკიდებული პროტეინინაზა ფოსფორილირებს მიკროსომულ Ca^{2+} -ატფაზურ სისტემასთან დაკავშირებულ ცილას, იწვევს ფერმენტის ერთი კონფორმერის გადასვლას მეორეში, რის შედეგადაც იზრდება კალციუმის აქტიური ტრანსპორტი.

THE KINETIC PROPERTIES OF MICROSOMAL Mg^{2+} , Ca^{2+} -ATPase AND
ITS ACTIVATION BY EXOGENOUS CYCLIC AMP-DEPENDENT
PROTEIN KINASE



D. G. MIKELADZE, D. G. KACHARAVA

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

S u m m a r y

It has been demonstrated, that exogenous cyclic AMP-dependent protein kinase activates the microsomal Mg^{2+} , Ca^{2+} -ATPase. Histones, namely, F_{2a} , F_{2b} inhibit microsomal Mg -dependent Ca^{2+} -stimulated ATPase. In the presence of histones the reaction starts slowly and increases to a steady state, inhibited rate. The half-time for enzyme activation and correspondingly the chain of lag-phase is equal to minutes and depends on the concentration of histones. In the pre-steady state region the inhibition is competitive removed by exogenous protein kinase. The first order rate constant for enzyme activation during the assay increases in direct proportion to the concentration of the exogenous protein kinase present. The inhibition in steady state region is also removed by adding cyclic AMP-dependent protein kinase. In the absence of inhibitor (histone) and activator (exogenous protein kinase), the substrate saturation curve is described by a hyperbole, whereas in the presence of activator or inhibitor the curves are signo'd by an intermediary plateau region. It is concluded, that cyclic AMP-dependent protein kinase phosphorylates the protein coupled with Ca^{2+} -ATPase microsomal system and causes conversion of a passive enzyme into an active form due to which active Ca^{2+} transport is enhanced.

**О ВЗАИМООТНОШЕНИЯХ МЕЖДУ ОРГАНИЗМАМИ И СРЕДОЙ
ИХ ОБИТАНИЯ ИЗ ЭКОСИСТЕМЫ РАННЕПОНТИЧЕСКОГО
(ЕВПАТОРИЙСКОГО) БАССЕЙНА ЧЕРНОМОРСКОЙ
ОБЛАСТИ**

А. И. Суладзе

Президиум АН ГССР, Тбилиси

Поступила в редакцию 5.9.1977

Статья посвящена вопросам взаимоотношений между организмами и средой их обитания на примере изучения биоса равнинного плато, в особенности евпатория Черноморской области Восточного Паратетиса. Подчеркивается необходимость сочетания подробных палеобиологических и геологических исследований для воссоздания общей картины всей экосистемы раннепонтического озера-моря в пределах исследуемого района — окрестностей нынешнего г. Евпатория.

Настоящее сообщение представляет собой попытку в некоторой мере восполнить то неудовлетворительное состояние палеонтологических методов в геологии, о котором сравнительно недавно писал Л. Ш. Давиташвили [13]. В частности, как он указывал, «это относится и к палеобиологическим методам выяснения обстановки осадконакопления и физико-географических условий прежних геологических времен». Однако этот вопрос обоюдоострый, ибо, по словам того же автора [10], без познания геологического процесса невозможно познание условий существования и факторов исторического развития органического мира.

Осознание того, сейчас, казалось бы, непереложного факта, что организмы активно участвуют в обмене веществ земной коры, выступая и в роли ее строителей, привело к формированию биогеохимии с ее объектами, методами и целями исследований. Она — система знаний, результаты исследований которых приобретают первостепенное практическое и научно-теоретическое значение. Круг этих вопросов не нов. Еще в 1800 г. Ж. Б. Ламарк [17] говорил о пороодообразующей роли организмов, изменениях, производимых животными и растениями посредством продуктов своей жизнедеятельности и своего распада, ссылаясь при этом на свои *Mémoires de physique et d'histoire naturelle, Paris, an V (1797)*, излагающие его представления о роли организмов в круговороте веществ. Более того, в 1786 г. он же недвусмысленно писал, что «минералы представляют собой подлинные продукты последовательных изменений, претерпеваемых с течением времени остатками органических существ» [17]. Таким образом, по справедливому замечанию Н. Б. Вассоевича [2], сумевшего с присущим ему мастерством дать исторический этюд из этой области, Ламарк более чем на столетие предвосхитил идеи В. И. Вернадского. Некоторые из высказываний не только Ламарка, но и Вернадского сейчас представляются, если не неприемлемыми, то во всяком случае спорными, а подчас и просто ошибочными. Это, в частности, относится к утверж-

дению последним постоянства массы живого вещества на Земле в течение всей геологической истории, что ныне не без оснований отрицается авторитетными учеными [4, 5, 12], и ряду других вопросов не менее, творческое наследие этих корифеев научной мысли является собой в высшей степени ценный материал, требующий самого пристального внимания со стороны естествоиспытателей. В связи с этим необходимо подчеркнуть, что отдельные идеи структурно-системного метода, приобретающего столь большое, надо сказать всеобъемлющее, значение как в общенаучных, так и в узкоспециальных исследованиях, встречаются в трудах некоторых ученых прошлого. Так, например, это убедительно было показано Л. Ш. Давиташвили [14] в отношении Ч. Дарвина. Имеются даже работы [16], посвященные рассмотрению этого вопроса в наследии К. Маркса. С полным основанием сегодня можно говорить о том, что и Вернадский во многих своих трудах, главным образом биогеохимических и общенаучных, высказывает мысли, созвучные положениям структурно-системного метода. Не останавливаясь подробно на этом вопросе, являющемся предметом специального изучения, приведем его слова о том, что «биогеохимия может быть рассматриваема... как геохимия биогенных процессов» [3]. Следовательно, необходимо всестороннее исследование функций биоценозов в осадках и их влияние на косную материю [15] и живую, добавим мы. А это, в свою очередь, едва ли возможно без детальных согласованных палеобиологических и геологических исследований, о чем уже говорилось в самом начале.

Палеобиологическое и стратиграфическое исследование евпаторийского горизонта — нижней части понтического яруса — дало возможность подойти к рассмотрению влияния организмов и продуктов их жизнедеятельности на среду обитания — бассейн осадконакопления отложений этого горизонта, — а через нее, следовательно, и на ее обитателей.

В окрестностях г. Евпатория и на Тарханкутском полуострове евпаторийский горизонт представлен толщей небольшой мощности, сложенной оолитовым известняком и характеризующейся соответствующей фауной. Было уточнено, что не вся толща оолитового известняка у г. Евпатория понтического возраста — нижняя часть ее относится к мэотису. Вместе с тем эта толща представляет собой единое литогенетическое образование. Вся эта толща содержит вертикальные, высотой до 1 м, трубчатые пустоты, безусловно, растительного происхождения. Эти трубчатые полые пустоты остались после отмирания прибрежно-водной и водной растительности во время седиментации толщи оолитового известняка. Заметим, что оолиты считаются надежным индикатором береговой линии.

Палеонтологические сборы показывают плохую сохранность макрофауны из отложений понтического возраста района г. Евпатория. Это надо объяснить растворением известкового материала раковин моллюсков, имеющего место в условиях относительно повышенной кислотности, образующейся при отмирании и последующем разложении прибрежной растительности. Поскольку оолиты являются минеральными образованиями участков земной коры, для которых свойственен активный гидродинамический режим, процесс растворения моллюсков протекал беспрепятственно.

В результате электронномикроскопического и рентгенографического исследования оолитов было обнаружено, что их нерастворимая часть представлена глинистым минералом — метагаллуазитом. Есть основание предполагать и наличие некоторого количества галлуазита, который, вероятно, первоначально имелся в осадке, но вследствие дегидратации перешел в метагаллуазит. Это согласуется с существую-

цими представлениями [25] о биогенном происхождении глины, нашими подтверждениями в последующих работах [22, 23, 24], указывающих на возможность синтеза глинистых минералов в результате жизнедеятельности и отмирания растительности при их разложении. Наконец, есть прямое указание на то, что в числе местонахождений гаулузита имеются и такие, где среда была богата органическими кислотами [1]. В отмытом каменном материале с толщи оолитового известняка из наших сборов М. Л. Вскуа были обнаружены оогонии харовых водорослей.

Помимо растительности, в нижнеплиоценовых отложениях из Крыма имеются многочисленные представители бентонной фауны — моллюски, остракоды, а также фораминиферы. Здесь необходимо подробнее остановиться на наличии ракушечников. Образование ракушечников, или как их еще называют ракушняков, явление широко распространенное по всему свету в разновозрастных осадочных образованиях, в том числе и неогене Черноморской области Восточного Паратетиса. Евпаторийский горизонт в районе г. Евпатория перекрывается одесскими слоями сплошь представленными очень и очень трудно распознаваемыми остатками двустворчатых моллюсков, представляющих собой в совокупности пыльный строительный камень, и поныне странным образом именуемый местным населением дикарем.

Повышенная плотность популяций бентонных форм указывает на наличие в их биотопах довольно активного гидрологического режима [18], а оолиты, как уже было сказано, образуются именно при таких условиях. Однако тут надо иметь в виду не только абиотические факторы, хотя и они могут существенно преобразовываться в силу воздействия на них организмов. Во всяком случае такая скучность населения вряд ли возможна при их неблагоприятности для организмов [11]. Что же касается биотических взаимоотношений в столь многочисленной популяции, то, по всей видимости, здесь уместно будет говорить о химической экологии [31], подразумевающей «химические исследования взаимосвязей между организмами и их взаимодействия с окружающей средой». Имеются данные, что в планктоне продукты метаболизма организмов воздействуют на другие организмы, служа при этом звеньями в трофических цепях; причем взаимоотношения фито- и зоопланктона настолько сложны, что трудно бывает представить их наглядно [27]. Нужно отметить, что понтические породы до сих пор не исследованы на предмет содержания в них остатков нанофитовланктона, которому ныне уделяется столь большое внимание и который, наверняка, был широко развит в бассейне понтического сзера-моря в пределах исследуемого нами региона. Вообще же, как отмечают видные экологи [6, 20], вопросам воздействия (в частности химического) живых организмов на среду своего обитания и ее население не уделяется должного внимания. Эта проблема и в палеобиологии является задачей первоочередной важности, разработка которой возможна методами палеобиохимии и органической геохимии с обязательным привлечением при этом общетеоретических соображений.

Представляя организмы в виде открытых систем [21] с их перманентным взаимодействием со средой (часть которой составляют и они сами), когда их популяции рассматриваются не в виде статичного, застывшего объекта внешних воздействий [19], а наоборот, реагирующими на эти воздействия и определенным образом преобразывающими их, всю экосистему понтического бассейна на исследуемом участке мы понимаем также в качестве открытой системы. Конечно, нет никакой возможности даже в первом приближении осветить все процессы, происходящие в морской среде — системе «фантасти-



чески сложной» [29]. Однако можно сказать, что в нашем случае значительные преобразования, происходящие внутри нее, вызванные биофильтрацией этой массой двустворчатых моллюсков совместно с уже описанным выше влиянием на среду там же произраставшей растительности, сочетались с внешними воздействиями, например миграциями фаун из западных бассейнов Паратетиса. Таким образом, тут мы подходим к биогеохимическому пониманию жизни в толковании Вернадского, отмечающего, что при взаимоотношении организма со средой не только организм бывает приспособлен к ней, но и среда, в свою очередь, оказывается приспособленной к нему [3].

Именно к такому широкому пониманию, по Вернадскому, роли живого вещества в седиментогенезе призывал А. В. Сидоренко [26], когда говорил, что посредством изучения эволюции живого вещества окажется возможным решение проблем, связанных с эволюцией земной коры. Для углубленного понимания этого вопроса необходимо отличить постседиментационные изменения, имеющие место в породах, от первоначальных особенностей осадков. В результате жизнедеятельности организмов, имеющих «посредническую роль» [8] при образовании многих минералов, происходят и постседиментационные преобразования осадков. Так, не имея оснований увязывать наличие определенных структурных особенностей, наблюдаемых при микроскопическом исследовании оолитов со всех изученных нами разрезов из окрестностей г. Евпатория с гравитационным уплотнением осадков, можно предположить, что тут, по всей видимости, на относительно ранних стадиях диагенеза, кроме первично специфических условий, имело место и влияние биохимических органиогенных процессов [30]. Что касается механизма образования самих оолитов вообще, то он окончательно не выяснен [28]. Имея же ввиду происхождение оолитов евпаторийского горизонта Западного Крыма, с большой долей вероятности можно говорить об их хемогенной природе, при существенном влиянии органиогенных процессов. Выяснению этого вопроса во многом может способствовать проведение изотопных анализов как самих зерен оолитов, так и материала известняковых трубочек, относимых под вопросительным знаком к «остаткам водорослей» [9] и встречаемых в некоторых из вышеупомянутых вертикальных пустот, с последующим сопоставлением полученных данных как между собой, так и с данными по изотопному анализу объектов заведомо известной природы.

Решение этой и некоторых других задач, поставленных в настоящей статье и имеющих определенный научный интерес, небезнадёжно, поскольку изучаемые нами отложения являются карбонатными, а они «в большей степени, чем некарбонатные отражают сложное влияние сообществ организмов на седиментационные обстановки и в свою очередь воздействие окружающих условий на сообщества организмов» [7].

ЛИТЕРАТУРА

1. Бетехтин А. Г. Курс минералогии, Госгеолтехиздат, М., 1961, 447.
2. Вассоевич Н. Б. Изв. АН СССР, сер. геол., 1, 55—70, 1977.
3. Вернадский В. И. Проблемы биогеохимии, I, Изд-во АН СССР, М.-Л., 1935.
4. Виноградов А. П. В кн.: В. И. Вернадский (Изб. тр., I), Изд-во АН СССР, М., 1954, 7.
5. Виноградов А. П. В кн.: В. И. Вернадский (Изб. тр., V), Изд-во АН СССР, М., 1960, 4.
6. Воронов А. Г. В кн.: Ж. Леме. Основы биогеографии, «Прогресс», М., 1976, 292.
7. Гарбаух Дж. У. В кн.: Карбонатные породы, I, «Мир», М., 1970, 355.



8. Гаррелс Р., Маккензи Ф. Эволюция осадочных пород, «Мир», М., 1974, 78.

9. Давиташвили Л. Ш. В сб.: Проблемы палеонтологии, 2—3, М., 1987, 575.

10. Давиташвили Л. Ш. Тр. Сектора палеобиологии АН ГССР, 3, 1956, 5.

11. Давиташвили Л. Ш. Бюлл. МОИП, отдел геологический, I, 43, 1965.

12. Давиташвили Л. Ш. Эволюция условий накопления горючих ископаемых в связи с развитием органического мира, «Наука», М., 1971, 47.

13. Давиташвили Л. Ш. В сб.: Общие вопросы эволюционной палеобиологии, VII, «Мецниереба», Тбилиси, 1973, 14.

14. Давиташвили Л. Ш. Научные доклады высшей школы, Биол. науки, 9, 6—9, 1973.

15. Дегенс Э. Т. Геохимия осадочных образований, «Мир», М., 1967, 247.

16. Кузьмин В. П. Принципы системности в теории и методологии К. Маркса, Политиздат, М., 1976.

17. Ламарк Ж.-Б. Изб. произведения в двух томах, I, Изд-во АН СССР, М., 1955.

18. Марковский Б. П. Методы биофациального анализа, «Недра», М., 1966, 167.

19. Наумов Н. П., Никольский Г. В. Зоологический журнал, XI, 8, 1133, 1962.

20. Одум Ю. Основы экологии, «Мир», М., 1975, 34.

21. Опариц А. И. Жизнь, ее природа, происхождение и развитие, «Наука», М., 1968, 11.

22. Перельман А. И. Геохимия ландшафта, «Высшая школа», М., 1966, 56.

23. Перельман А. И. Геохимия энigenетических процессов, «Недра», М., 1968, 29.

24. Перельман А. И. Геохимия ландшафта, «Высшая школа», М., 1975, 49.

25. Польшов Б. Б. Изб. тр., Изд-во АН СССР, М., 1956, 475.

26. Сидоренко А. В. Литология и полезные ископаемые, 6, 9, 1972.

27. Уильямсон М. Анализ биологических популяций, «Мир», М., 1975.

28. Фэйрбридж Р. В. В кн.: Проблемы палеоклиматологии, «Мир», М., 1968, 265.

29. Хорн Р. Морская химия, «Мир», М., 1972, 14.

30. Чилингар Дж. В., Биссел Х. Дж., Вольф К. Х. В кн.: Диагенез и катагенез осадочных образований, «Мир», М., 1971, 169.

31. Эгlington Дж. В сб.: Органическая геохимия, «Недра», Л., 1974, 36.

შავი ზღვის რაიონის ადრეპონტური (ევპატორიის) აუზის ეკოსისტემის ორგანიზმებისა და მათი საარსებო გარემოს ურთიერთობათა შესახებ

ა. სულაძე

საქართველოს სსრ მეცნიერებათა აკადემიის პრეზიდიუმი, თბილისი

რეზიუმე

ნაშრომში განხილულია ორგანიზმებისა და მათი საარსებო გარემოს ურთიერთობათა საკითხები, აღმოსავლეთ პარათეთისის შავი ზღვის რაიონის ადრეული პლიოცენის, განსაკუთრებით ევპატორიული ბიოსის შესწავლის მაგალითზე. ხაზგასმით არის აღნიშნული, რომ აუცილებელია შეთანხმებულად ჩატარდეს პალეობიოლოგიური და გეოლოგიური დეტალური კვლევა, რათა აღვადგინოთ ადრეპონტური ტბა — ზღვის მთლიანი ეკოსისტემის ზოგადი სურათი, საკვლევი რაიონის — ასლანდელ ქ. ევპატორიის მიდამოებში.

ON THE INTERRELATIONSHIPS BETWEEN THE ORGANISMS
FROM THE ECOSYSTEM OF EARLY PONTIAN EUPATORIAN BASIN
OF THE BLACK SEA REGION AND THEIR ENVIRONMENT



A. I. SULADZE

Presidium of Georgian Academy of Sciences, Tbilisi, USSR

S u m m a r y

The article is devoted to the questions of interrelationships between the organisms and their environment as judged from the study of Early Pliocene bios, particularly, of the Eupatorian one, in the Black Sea region of the East Parathetis. The necessity of a detailed paleobiologic and geologic study combination for the restoration of the general picture of the whole Early Pontian Lake — sea ecosystem in the ranges of the studied region, i. e. the vicinity of Eupatoria, is emphasized.

УДК 576.853.854.

МИКРОБИОЛОГИЯ

ТИОНОВЫЕ БАКТЕРИИ ИЗ ТЕРМАЛЬНЫХ ИСТОЧНИКОВ ГРУЗИИ

Л. И. Сахвадзе, М. И. Имнадзе, Л. Г. Картвелишвили

Кавказский институт минерального сырья Министерства геологии СССР, Тбилиси

Поступила в редакцию 5.5.1977

Изучено распространение тионовых бактерий в горячих источниках Грузии. Установлено, что эти бактерии хорошо развиваются в серных водах города Тбилиси при температуре 50—60°C и характеризуются высокой выщелачивающей способностью. Изучены также некоторые физико-химические свойства вод из горячих источников Грузии и установлено, что в них имеются необходимые условия для жизнедеятельности тионовых и сульфатредуцирующих бактерий.

Термофильные бактерии широко распространены в природе.

Естественными очагами обитания термофильных микроорганизмов являются горячие источники. Уже изучена микрофлора горячих источников различных климатических зон — Северный Кавказ, Средняя Азия, Камчатка и др. [1—6].

Исследование микрофлоры горячих источников Грузии, выделение термофильных микроорганизмов и установление их выщелачивающей способности проводятся впервые.

Работа выполнена общепринятыми методами, используемыми в области водной и геологической микробиологии.

Для количественного учета микроорганизмов в середине августа 1976 года нами отобрано 28 проб воды из термальных зон г. Тбилиси (скважины 5, 7, 8) и Западной Грузии (Киндги, Цаиши, Хорга). Пробы отбирались из водопонижительных скважин с помощью погружных насосов.

Непосредственно у скважины в пластовой воде определялись температура, содержание восстановительных форм серы (путем йодометрического титрования воды), величины рН и Eh — потенциометрически, на приборе рН-47.

Пробы для анализа количества микроорганизмов отбирались в стерильную посуду и в тот же день высевались на соответствующих питательных средах: *Thiobacillus ferrooxidans* на среде Сильвермана и Лондгрена 9К; *Th. thiooxidans* на среде Ваксмана и Иоффе с серой; *Th. thioparus* на среде Бейеринка с добавлением тиосульфата натрия; *Th. novellus* на среде Старки; *Th. intermedius* на среде Лондона; *Th. perometabolis* на среде Лондона и Ритенберга; гетеротрофные бактерии на МПА — с добавлением 1% глюкозы; сульфатредуцирующие бактерии на среде Кравцова и Сорокина.

Медь и марганец в растворах определялись фотокалориметрическим методом.



Результаты микробиологических анализов горячих источников Грузии показывают, что основным организмом, широко распространенным по всем источникам, является *Th. thioparus*.

Хотя *Th. thioparus* был обнаружен во всех исследованных нами образцах (кроме источников Хорга), их количество значительно больше в скважинах № 8 г. Тбилиси, Киндги, Зугдиди, Цанши, чем в скважинах № 5, 7 г. Тбилиси. Данный факт объясняется тем, что *Th. thioparus* лучше всего развивается при пониженных значениях окислительно-восстановительного потенциала и рН в пределах 7,5—9,4 (табл. 1).

Таблица 1

Микрофлора горячих источников Грузии

Место отбора образцов		Автотрофные тионовые бактерии			Сульфатредуцирующие бактерии	Гетеротрофные аэробные бактерии (тысяча на мл воды)
		<i>Th ferrooxidans</i>	<i>Th thiooxidans</i>	<i>Th thioparus</i>		
г. Тбилиси	Скважина 5	10 ⁴	нет	10 ⁴	нет	128,5
	Скважина 7	10 ⁷	10	10 ⁵	нет	147,5
	Скважина 8	10 ⁶	10 ⁵	10 ⁸	нет	107,0
Западная Грузия	Киндги	нет	нет	10 ⁸	10 ⁸	105,0
	Зугдиди	нет	нет	10 ⁸	нет	124,0
	Цанши	нет	нет	10 ⁸	нет	122,0
	Хорга	нет	нет	нет	нет	135,0

Th. thioparus, по мнению Заварзина, относится к организмам 58-S и 70-S, выделенных им из озера Горячего в кальдере вулкана Головинна [2].

Учет *Th. ferrooxidans* и *Th. thiooxidans* показывает, что они встречаются в скважинах г. Тбилиси при температуре 35—50°C, что подтверждается литературными данными [1, 2, 6], в которых описаны случаи развития железо- и сероокисляющих бактерий в термальных водах с температурой 41—60°C [1, 2, 6].

В термальных источниках сероокисляющим бактериям нередко сопутствуют сульфатредуцирующие бактерии. По результатам опыта интересным оказался факт распространения сульфатредуцирующих бактерий в сульфатно-хлор-кальциевых водах Киндги, где температура воды — 89°C. Наши данные подтверждаются результатами исследований Крамаренко [5], который описывает нахождение сульфатредуцирующих бактерий в воде Омской опорной скважины, где температура достигает 85°C.

Кроме указанных групп микроорганизмов, мы изучали возможность наличия термофильных гетеротрофных бактерий.

Из литературных данных известно, что большинство термофильных гетеротрофных бактерий выделено на средах, в состав которых входят пептон [9, 10], мясной бульон [7], 1% глюкозы [8]. Мы изучали их на глюкозном (1%) МПА. Интересно отметить, что этими бактериями почти одинаково населены изучаемые нами горячие источники Грузии. Это объясняется тем, что наиболее благоприятными для развития гетеротрофных аэробных термофильных бактерий является рН среды 6,8—7,8 (табл. 1).

Физико-химические показатели вод горячих источников Грузии

Место отбора образцов	Температура, °С	pH	Еh, мВ	Rr ₂	Тип воды	Количество элементов, г/л													
						K + Na	Mg	Ca	Fe ²⁺	Fe ³⁺	Cl	SO ₄	HCO ₃	CO ₂	SiO ₂	Fe ₂ O ₃ + Al ₂ O ₃	H ₂ S	H ₂ SiO ₃	
Тбилиси	Скважина 5	43,5	7,7	434	30,3	Хлор-натр-кальциевый	0,22	0,004	0,528	следы	следы	2,801	0,001	0,018	0,012	0,04	0,005	нет	нет
	Скважина 7	35,0	8,3	414	29,6	-	0,78	0,004	0,262	следы	следы	1,631	0,005	нет	0,024	0,034	0,01	0,001	нет
	Скважина 8	50,0	7,7	414	30,8	Сульфатно-хлор-кальц-натриевый	0,099	0,003	0,03	следы	следы	0,045	0,122	0,058	0,005	0,034	0,008	0,031	нет
Западные Грузия	Киндга	89,0	7,4	424	29,4	Сульфатно-хлор-кальциевый	0,472	0,073	0,551	нет	нет	1,374	0,311	0,183	нет	нет	нет	0,034	0,29
	Зугдиди	91,0	8,1	424	30,8	Хлор-сульфатный	0,080	0,008	0,136	нет	0,01	0,167	0,323	0,189	нет	нет	нет	нет	0,008
	Цацха	81,0	8,1	244	30,8	Сульфатный	0,175	0,023	0,252	нет	нет	0,200	0,62	0,17	нет	0,043	0,013	нет	нет
	Хорта	110,0	7,6	414	30,5	Хлор-кальциевый	0,170	0,170	1,012	нет	0,002	5,87	0,818	нет	нет	нет	нет	нет	нет

В процессе изучения микрофлоры горячих источников Грузии на наличие миксотрофных и других видов тионовых бактерий, развивающихся при высоких значениях рН, в обследованных нами образцах не обнаружены.

В табл. 2 приведена физико-химическая характеристика вод горячих источников Грузии. Термальные воды в основном характеризуются нейтральной и слабощелочной реакцией среды (рН 7,4—8,1); величина окислительно-восстановительного потенциала (ОВП) — 244 — 444 мВ, температура воды 35—110° С; воды в основном сульфатно-хлор-кальциевых типов.

Все это говорит о том, что в исследуемых горячих источниках Грузии имеются необходимые условия для жизнедеятельности термофильных микроорганизмов.

При изучении микрофлоры горячих источников Грузии наиболее часто встречающиеся организмы выделялись и очищались в чистую культуру.

Для установления выщелачивающей способности выделенных штаммов были поставлены сравнительные опыты в стационарных условиях.

Отбору подверглись штаммы, выделенные из горячих источников Грузии (штамм 335—348), а также из сульфидных руд Квемо-Болнисского (штамм 308—315) и марганцевых руд Чиатурского месторождения (штамм 209—211).

Таблица 3
Некоторые показатели процесса выщелачивания марганца и меди

№ штамма	Выщелачивание марганца						Извлечение, %	Выщелачивание меди						Извлечение, %
	характер исходного материала			характер конечного материала				характеристика исходного материала			характеристика конечного материала			
	рН	Eh	rh ₂	рН	Eh	rh ₂		рН	Eh	rh ₂	рН	Eh	rh ₂	
341	3,6	754	33,2	2,9	524	23,8	40,0	3,3	594	27,0	1,4	738	28,0	27,0
342	3,5	644	29,2	2,9	594	26,2	36,0	3,3	609	27,6	2,4	754	30,8	23,0
343	3,5	644	29,2	3,2	424	31,3	33,0	3,4	584	26,9	2,5	734	30,3	41,0
344	3,5	654	29,5	2,6	724	30,1	33,0	3,3	609	27,6	2,4	734	25,3	23,0
345	3,6	654	29,7	2,6	724	30,1	33,0	3,4	612	27,9	2,5	744	30,6	29,0
346	3,6	634	30,0	2,8	724	30,5	33,0	3,4	614	27,9	2,4	734	30,1	27,0
347	3,5	634	28,8	2,7	704	29,6	29,0	3,4	614	27,9	2,4	744	30,4	29,0
348	3,5	654	29,5	2,6	684	28,7	40,0	3,3	604	27,4	2,5	734	30,3	27,0
209	3,5	570	26,2	3,0	495	23,1	12,5	2,7	—	—	—	—	—	—
308	—	—	—	—	—	—	—	2,7	619	26,7	2,1	694	28,1	11,9
335	4,7	644	31,6	5,1	494	24,6	21,0	3,9	519	25,6	2,5	474	21,3	8
336	3,4	624	28,3	3,0	524	21,4	29	3,3	469	22,7	2,5	422	19,5	8
337	3,5	634	28,8	3,6	504	24,5	14	3,2	46	22,5	2,3	494	38,0	16
338	3,6	654	29,7	2,6	704	29,4	6	3,6	484	23,2	2,5	499	22,2	8
339	3,3	634	28,4	5,0	504	27,3	2	3,7	514	25,1	1,3	479	19,1	21
340	3,8	644	29,8	4,9	534	28,2	6	3,6	494	24,2	2,4	489	21,4	16
315	—	—	—	—	—	—	—	2,5	504	22,3	2,3	610	25,6	3,5
211	4,2	610	29,4	4,0	595	28,6	7,4	—	—	—	—	—	—	—

Исходные пробы медной (Cu-0,67%) и марганцевой (окисный шлам Mn-12,04%) руды, измельченные до крупности 0,1 мм, в количестве 2,5 г помещались в коническую колбу (250 мл) и заливались соответствующей питательной средой (для железобактерий — среда Летена, а для сероокисляющих бактерий — среда Кол-



мера) и 10%-ным культуральным раствором (100 мл). Колбы с указанными компонентами устанавливались в стационарных условиях (термостате) при температуре 28°C. После истечения 21 суток выделенная пульпа фильтровалась и затем определялось содержание меди и марганца, значение pH и окислительно-восстановительного потенциала.

Результаты этих исследований представлены в табл. 3.

Как видно из полученных данных, извлечение марганца из окисного шлама в зависимости от использования различных штаммов железобактерий, выделенных из горячих источников Грузии, находится в пределах 29—40 и 2—29%, а в опытах, где в культуральной жидкости использовались штаммы железобактерий (штамм 209) и серобактерий (штамм 211) бактерий, выделенных из марганцевых руд Чиатурского месторождения, лишь в пределах 6,5—7,4%. Аналогичные данные были получены и в процессе выщелачивания меди из сульфидных руд Квемо-Болнисского месторождения. Извлечение меди культурами, выделенными из термальных вод Грузии, равнялось 23—41% (штаммы железобактерий 341—348) и 8—21% (штаммы серобактерий 335—340), а культурами, выделенными из Квемо-Болнисского месторождения — 11,9% (штамм 308), 3,5% (штамм 315) и 11,9% (штамм 308).

В контрольных опытах в растворе были обнаружены лишь следы марганца и меди.

Таким образом, на основе проведенных физико-химических и микробиологических исследований можно заключить, что в термальных источниках Грузии имеются необходимые условия для жизнедеятельности тионовых, сульфатредуцирующих, гетеротрофных аэробных бактерий, и особенно, для железо- и серобактерий, являющихся основным организмом, участвующим в процессе выщелачивания.

В результате проведенных исследований установлена возможность выщелачивания марганца и меди с применением термофильных железо- и серобактерий.

Бактерии, выделенные из горячих источников Грузии, характеризуются более активной выщелачивающей способностью, чем штаммы, выделенные из марганцевых руд Чиатурского и из сульфидных руд Квемо-Болнисского месторождения.

ЛИТЕРАТУРА

1. Волков О. Ю. Микробиология, 8, 7, 863—869, 1939.
2. Заварзин Г. А., Жилина Т. Н. Микробиология, 33, 5, 844—869, 1939.
3. Имшенецкий А. А. Микробиология, II, 1, 2—29, 1942.
4. Каравайко Г. И., Кузнецов С. И., Голомзик А. И. Роль микроорганизмов в выщелачивании металлов из руд, «Наука», М., 1974.
5. Крамаренко Л. Е. В сб.: Вопросы нефтепоисковой гидрогеологии, Госгеологиздат, Л., 24—33, 1956.
6. Кузнецов С. И. Труды Ин-та микробиологии АН СССР, Изд-во АН СССР, М., 4, 1955, 36—38.
7. Edwards O. F. J. Bacteriol., 34, 489—492, 1937.
8. Lordon R. E., Smith N. K. J. Bacteriol., 58, 327—329, 1949.
9. Nakamura G. J. Biochem., 48, 295—298, 1960.
10. Williams O. B., Robertson W. J. J. Bacteriol. 67, 377—380, 1954.

კავკასიის მინერალური წყლების ინსტიტუტი, თბილისი

რ ე ზ ი უ მ ე

საქართველოს ბუნებრივი ცხელი წყლების მიკროფლორის შესასწავლად გამოკვლეულ იქნა ქ. თბილისის (ჭაბურღილი 5,7,8) და დასავლეთ საქართველოს (ზუგდიდი, ცაიში, ხორგა, კინდღი) თერმული წყლები. გამოირკვა, რომ ამ წყლებში ინტენსიურად გავრცელებულ მიკროორგანიზმებს მიეკუთვნება ავტოტროფული თიო, სულფატ-რედუცენელი და აერობული ჰეტეროტროფული ბაქტერიები.

შესწავლილია გამოყოფილი მიკროორგანიზმების გამოტუტვის უნარი და დადგენილია, რომ საქართველოს თერმული წყლებიდან გამოყოფილი ბაქტერიები სპილენძისა და მარგანეცის უფრო აქტიური გამოტუტვით ხასიათდებიან, ვიდრე ჭიათურის მარგანეცისა და ქვემო ბოლნისის საბადოების მადნებიდან გამოყოფილი შტამები.

შესწავლილია აგრეთვე თერმული წყლების ზოგიერთი ფიზიკური და ქიმიური თვისება და დადგენილია, რომ სულფატ-ქლორ-კალციუმის ტიპის თერმული წყლები, რომელთა ტემპერატურაა 35—110°C, ნეიტრალურია და სუსტი ტუტე რეაქციით ხასიათდებიან.

THIONIC BACTERIA FROM THERMAL SPRINGS OF GEORGIA

L. I. SAKHVADZE, M. I. IMNADZE, L. L. KARTVELISHVILI

Caucasian Institute of Mineral Resource, Tbilisi, USSR

S u m m a r y

Thermal zones in Tbilisi (chinks 5, 7, 8) and Western Georgia (Zugdidi, Tsaishi, Khorga, Kindgi) were investigated in order to study the microflora of hot springs of Georgia.

Evidence has been obtained that the most spread microorganisms are autotrophic thionic bacteria, sulphate-reduced and heterotrophic aerobic bacteria.

Lixiviation ability of the isolated microorganisms was studied and the bacteria isolated from hot springs of Georgia were shown to be characterized by more lixiviatational abilities of copper and manganese, than the strains isolated from manganic ores of Chiatura deposit and sulphide ores of Kvemo-Bolnisi deposit.

Some physico-chemical properties of water were also studied and sulphate-chlorine calcic types of thermal waters with the temperature of 35—110°C appeared to be characterized by neutral and weak-alkaline reaction of medium.

УДК 576.8.097.3

ИММУНОЛОГИЯ

РАСПРЕДЕЛЕНИЕ СПЕЦИФИЧЕСКИХ АНТИТЕЛ В РАЗЛИЧНЫХ ФРАКЦИЯХ АНТИФАГОВЫХ СЫВОРОТОК

К. К. Гачечиладзе, Т. К. Патаридзе, Т. Г. Чанишвили,
Н. Ш. Баларджишвили, И. А. Георгадзе

Тбилисский научно-исследовательский институт вакцин и сывороток МЗ СССР

Поступила в редакцию 10.10.1977

Кроличья и ослиные антифаговые сыворотки были разделены на отдельные фракции с применением диск-электрофореза в полиакриламидном геле. Исследованием антифаговой активности отдельных фракций методом иммунодиффузии в агаровом геле и реакцией нейтрализации фага удалось установить, что в исследуемых гипериммунных сыворотках специфические антитела расположены в основном в иммуноглобулиновой G фракции, однако значительная часть антител находится также и в других фракциях сыворотки. Установлено также некоторое различие в распределении специфических глобулинов в ослиных (12 фракций) и кроличьих (8 фракций) сыворотках.

Исследования образования антифаговых антител показали, что при одинаковых условиях иммунизации в ослиных сыворотках наблюдается более интенсивное накопление антител, чем в кроличьих [2, 3]. Разделением указанных сывороток методом электрофореза на бумаге было установлено, что в ослиных и кроличьих сыворотках антитела распределяются в γ и β глобулиновых фракциях [2, 3]. Эти данные, указывающие на гетерогенность состава фагонейтрализующих антител, согласуются с результатами других исследователей, установившими, что носителями одной и той же иммунологической специфичности могут быть компоненты с различной электрофоретической подвижностью [4, 5, 7].

Применение метода диск-электрофореза в акриламидном геле расширяет возможности аналитического исследования активных компонентов сыворотки [6]. Принцип метода заключается в том, что ввиду различной пористости акриламидного геля исследуемое вещество разделяется не только по заряду, но и по величине и форме молекулы [8, 10, 13, 16, 17, 18].

Целью проведенной работы являлось разделение антифаговых сывороток в акриламидном геле и установление распределения специфических антител в различных фракциях.

МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ

В работе использовали фаг ДДVI (диагностический дизентерийный), выделенный в ТбилНИИВС [10]. В качестве хозяина служил штамм *E. coli* B.

Для разделения в полиакриламидном геле применялись ослиная и кроличья антифаговые сыворотки к фагу ДДVI и иммуноглобулины G, полученные из них.

Фаговые концентраты получали методом глубинного выращивания с аэрацией. Концентрацию и очистку проводили на ДЭАЭ-целлюлозе с применением дифференциального центрифугирования [11]. Антисыворотки к фагу ДДVI получали путем иммунизации кроликов и ослов увеличивающимися дозами антигена от 10^9 до 6×10^{10} корпускул на кг веса животного. Интервалы между инъекциями — 4 дня.

Выделение фракции иммуноглобулина G проводили следующим образом: 2 мл антисыворотки наносили на небольшую колонку ($v = 5$ мл), заполненную ДЭАЭ-целлюлозой, уравновешенную 0,0015 М фосфатным буфером, pH 6,3. Элюцию проводили тем же буфером. Фракции собирали по 2 мл и количество содержащегося белка определяли спектрофотометрированием при 280 нм [9].

Преципитирующие свойства фракционированных сывороток исследовали методом иммунодиффузии в агаре. После окончания диск-электрофореза препараты в столбиках помещали на чашки Петри со свежеразлитым 1% агаром «Difco» в 0,14 М NaCl. После застывания на расстоянии 1 см от столбика вырезали продолговатые углубления и заливали концентрат фага ДДVI, содержащий 1×10^{12} корпускул [6,8].

Исследование фагонейтрализующих свойств отдельных фракций проводилось следующим образом: столбики неокрашенного геля сразу после окончания электрофореза расставляли в специальной рамке рядом с окрашенными и нарезали бритвой на соответствующие участки. Элюцию проводили фосфатным буфером или 0,14 М NaCl в течение 24 ч. Для удаления остатков геля смесь центрифугировали при 2000 об/мин 15 мин. В надосадочной жидкости определяли наличие антифаговых антител в опытах реакции нейтрализации [1]. Для контроля устанавливали количество жизнеспособных частиц как на бульоне, так и на элюате чистого геля. Процент нейтрализованного фага выводили по формуле

$$\% N = 100\% - \frac{P}{P_0} \times 100, \quad [15]$$

где P — число негативных колоний в опыте;

P_0 — число негативных колоний в контроле;

% — процент нейтрализованного фага.

Диск-электрофорез проводили по методу, описанному Маурером [8]. В работе использовали реактивы фирмы «Reanal».

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЙ

В поисках наиболее оптимальных условий для разделения антифаговых сывороток и для достижения стандартности результатов были проведены серийные исследования с вариациями различных показателей. Менялось количество наносимой сыворотки, процент содержания акриламида в геле, сила тока, продолжительность опыта и концентрация красителя. Определенное влияние на результаты деления оказывает время полимеризации геля, что зависит от температуры исходных растворов, освещения и температуры окружающей среды. В наших опытах для полимеризации использовались растворы комнатной температуры ($17-18^\circ$); полимеризацию проводили при освещении лампой дневного света.

В опытах применялись однородная (разделяющая) и неоднородная (концентрирующая и разделяющая) системы гелей. Как видно из данных, представленных в табл. I, при применении низких концентраций геля количество выявляемых фракций равнялось восьми. При-

менение высоких концентраций акриламида (15%-ный гель) позволило выявить всего пять фракций, вероятно, из-за задержки крупных молекул в связи с уменьшением размера пор. Максимальное число фракций наблюдалось при применении 7,5%-ного акриламидного геля, при этом немаловажное значение имело процентное содержание красителя и объем и концентрация материала, наносимого на каждую трубку. Использование концентрирующего геля в неоднородной системе не меняло число фракций, однако заметно улучшалась четкость выявления отдельных зон.

С помощью применения таких методических приемов в регулярно повторяющихся опытах удалось получить на электрофореграммах кроличьих сывороток 14—15 фракций, а на ослиных 16. На рис. 1а и 2а представлены результаты опыта разделения ослиной и кроличьей сывороток в неоднородной системе геля.

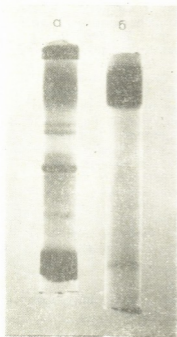


Рис. 1. Расположение белковых фракций при разделении в полиакриламидном геле: а—ослиная антифаговая сыворотка ДДVI; б—IgG антифаговой ослиной сыворотки

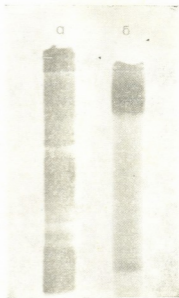


Рис. 2. Расположение белковых фракций при разделении в полиакриламидном геле: а—кроличья антифаговая сыворотка ДДVI; б—IgG антифаговой кроличьей сыворотки

При применении диск-электрофореза в полиакриламидном геле для разделения сывороточных белков особенную сложность представляет дифференцирование глобулиновых фракций, которое образует трудно уловимый комплекс полос, создающих «активный фон» для других фракций [8, 12, 13]. Так как основная масса специфических антител связана с иммуноглобулинами G класса [5, 9], следовало установить их распределение при фракционировании в диск-электрофорезе. Для выполнения этой задачи методом ионообменной хроматографии на ДЭАЭ-целлюлозе из исследуемых сывороток было выделено 12 серий иммуноглобулина G. Содержание белка равнялось от 5 до 6,2 мг/мл.

Сравнение сывороток и иммуноглобулина G в реакции нейтрализации показало, что в последних сохраняется 60—70% исходной активности. Разделение иммуноглобулина G в опытах диск-электрофореза проводилось одновременно с исходными сыворотками. Было установлено, что (рис. 16 и 26) как ослиные, так и кроличьи иммуноглобулины на электрофореграммах образуют 2 зоны: первая, широкая полоса, расположена близко от старта, по размеру и интенсивности окраски соответствует третьей зоне сыворотки; вторая, в виде нечетко выраженной узкой полосы, расположена в самом конце геля на уровне характерном для альбуминов [8, 12].

Таблица 1
Разработка условий фракционирования антифаговых сывороток ДДVI методом диск-электрофореза в акриламидном геле

Сыворотка	К-во, мл	% геля	Сила тока, мА	Продолжительность опыта, ч	Кол-во фракций		Критерий, %
					однородный гель	неоднородный гель*	
кроличья ослиная	0,05	3,75	5	3	8 8	—	1
кроличья ослиная	0,05	7,5	5	3	9 9	—	1
кроличья ослиная	0,05	15,0	5	3	5 5	—	1
кроличья ослиная	0,1	7,5	5	2	10 10	10 10	1
кроличья ослиная	0,1	7,5	4	2	12 12	12 12	0,5
кроличья ослиная	0,15 в разв. 1:2	7,5	4	2	14 16	14 16	0,5
кроличья ослиная	0,15 в разв. 1:2	7,5	4,5	2	15 16	15 16	0,5

Примечание: — — опыты данного типа не подтвердились.

Для определения преципитирующей активности сывороток и иммуноглобулинов G, разделенных в полиакриламидном геле, применяли метод иммунодиффузии в агаре. Проведенные опыты показали, что при взаимодействии фракционированной сыворотки с фагом линия преципитации размещается соответственно уровню не менее восьми фракций, расположенных ближе к старту (рис. 3). В случае взаимодействия иммуноглобулина G с фагом соответственно одной широкой полосе иммуноглобулина образуется короткая линия преципитации. Сопоставляя полученные результаты, можно предположить, что преципитирующие антитела в антифаговых сыворотках содержатся не только в иммуноглобулиновой G фракции, но и в других фракциях.

Для уточнения полученных данных были проведены опыты исследования нейтрализующей активности отдельных зон.

Сводные данные, полученные в результате проведения 10-кратных опытов, представлены в табл. 2. Как видно из представленного материала, испытание отдельных зон, полученных при разделении сывороток в однородной системе геля, показало, что фагонейтрализующей активностью обладают 12 зон ослиной и 10 зон кроличьей сыворотки.

Следует отметить, что по степени активности зоны отличались друг от друга: наиболее высокая фагоингибирующая способность обнаруживалась у элюата 3 зоны, по форме и расположению идентичной иммуноглобулину G (рис. 1 и 2). Что касается остальных зон, то активность в первых зонах выражается сильнее, затем она постепенно уменьшается, а с 13 по 16 зоны нейтрализующей активностью не обладают.

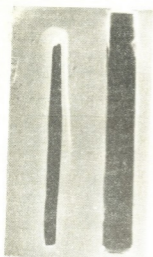


Рис. 3. Реакция преципитации в геле фракционированной кроличьей антифаговой сыворотки и фага: с правой стороны столбик с фракционированной антифаговой сывороткой к фагу ДДVI. Слева, в выемке, — концентрат фага ДДVI

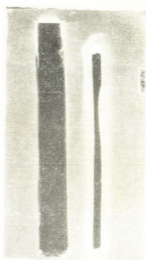


Рис. 4. Реакция преципитации в геле иммуноглобулина G, выделенного из антифаговой сыворотки ДДVI: с левой стороны столбик с иммуноглобулином G, справа (в выемке) — концентрат фага ДДVI

Более четкие результаты были получены при исследовании фаго-нейтрализующей способности фракции антифаговых сывороток, проведенных через неоднородную систему полиакриламидного геля. Представленные данные (табл. 2) показывают, что наиболее высокой активностью обладают первые три и восьмая зона. Установлено также некоторое различие в расположении активных глобулинов при электрофорезе ослиных и кроличьих сывороток. В кроличьих сыворотках нейтрализующей активностью обладают 8 зон, а в ослиных сыворотках активность наблюдается у 12 зон (табл. 2).

Изучение фагонейтрализующей активности зон, полученных при фракционировании иммуноглобулинов G в диск-электрофорезе (табл. 2), показало, что основная, широкая зона, обладает высокой фагонейтрализующей способностью, а вторая, расположенная в конце столбика, также как и промежуточная часть геля (между первой и второй зоной иммуноглобулина G) нейтрализующей способностью не обладает. По-видимому, вторая зона, полученная при проведении в полиакриламидном геле иммуноглобулинов G, представляет следы альбуминов.

Таким образом, полученные нами экспериментальные данные показывают, что максимальное число фракций, выявленных при разделении ослиных антифаговых гипериммунных сывороток с применением диск-электрофореза, равнялась 16, а кроличьих 15. Применение в опытах серологических реакций дало возможность установить, что эффект преци-

питания и нейтрализации фага получается одними и теми же компонентами сыворотки, обладающими одинаковым зарядом и размером молекул. При этом в кроличьих сыворотках удалось выявить 8, а в ослиных 12 фракций, обладающих специфической серологической активностью.

Таблица 2

Исследование фагонейтрализующей активности отдельных зон кроличьих и ослиных антифаговых сывороток и иммуноглобулина

№ фракции	Нейтрализация фага в %					
	однородная система геля		неоднородная система геля			
	сыворотка кроличья	сыворотка ослиная	сыворотка кроличья	сыворотка ослиная	кроличий Ig G	ослиный Ig G
1	57,0	53,5	74,5	60,0	0	0
2	50,0	47,0	85,0	82,0	0	0
3	70,0	75,0	98,9	97,7	97,7	98,9
4	32,0	48,0	25,0	40,0	0	0
5	28,0	30,0	20,0	30,0	0	0
6	28,0	22,0	10,0	30,0	0	0
7	10,0	20,0	10,0	30,0	0	0
8	36,0	44,0	37,0	57,0	0	0
9	15,0	15,0	0	20,0	0	0
10	10,0	20,0	0	20,0	0	0
11		15,0	0	10,0	0	0
12		10,0	0	0	0	0
13	0	0	0	0	0	0
14	0	0	0	0	0	0
15	0	0	0	0	0	0
16		0		0	0	0

Примечание: Номера фракций обозначают порядок зон, начиная от места нанесения сыворотки (рис. 1 и 2)

Фракционирование иммуноглобулина G, выделенного из исследуемых сывороток, позволило установить расположение иммуноглобулиновой G фракции в препаратах исходных сывороток и показало, что большая часть специфических антител содержится именно в данной фракции. Установление факта, что столбик геля с иммуноглобулином G вне основной зоны не обладал серологическими свойствами (табл. 2) и не окрашивался (рис. 16 и 26) указывает на то, что наблюдаемый многими авторами [8, 12, 14] феномен «растекания» глобулиновых фракций, создающих активный фон, не обусловлен иммуноглобулинами G класса.

В свете современных данных о строении иммуноглобулинов с разделением их на несколько классов и подклассов [7, 9] следует предположить, что полученные нами результаты подтверждают гетерогенность состава специфических глобулинов и указывают также на некоторое различие в их распределении в сыворотках различных животных.

ЛИТЕРАТУРА

1. Адамс М. Бактериофаги, ИЛ, М., 1961, 408—409.
2. Брегвадзе М. Б., Гачечиладзе К. К., Георгадзе И. А. Труды ТбилНИИВС, VIII, 306—310, 1970.
3. Гауровиц Ф. Иммунология и биосинтез антител, «Мир», М., 1969, 112—116.
5. Серия биологическая, т. 5, № 1



4. Георгадзе И. А., Гачечиладзе К. К., Брегвадзе М. Б. Мат. юбилейного II съезда Респ. научно-медицинского общества эпидемиологов и инфекционистов ГССР, Тбилиси, 160—161.
5. Грабар П. Биохимия, 22, 1—2, 49—59, 1957.
6. Гурвич А. Е. Биохимия, 22, 6, 1028—1034, 1957.
7. Кэбот Е., Мейер Н. Экспериментальная иммунохимия, «Медицина», М., 1968.
8. Маурер Г. Диск-электрофорез, «Мир», М., 1971.
9. Незли Р. С. Строение и биосинтез антител, «Наука», М., 1972, 35—36.
10. Чанишвили Т. Г. Дизентерийные бактериофаги, Автореф. докт. дисс., Тбилиси, 1969.
11. Чанишвили Т. Г., Биркадзе Т. В., Чиракадзе И. Г. Труды ТбилНИИВС, VI, 73—75, 1967.
12. Davis B. J. Ann. N. Y. Acad. Sci., 121, 404—427, 1964.
13. Felgenhauer K., Bach S., Stammer A. Klin. Wschr., 45, 371—377, 1967.
14. Ornstein Leonard. Ann. N. Y. Acad. Sci., 121, 2, 321—349, 1964.
15. Pospisil M., Hajan P. Folia microb., 12, 544—550, 1967.
16. Raymond S., Wang C. H. Anal. Biochem., 1, 391—396, 1960.
17. Raymond S., Weintraub L. Science, 136, 711—713, 1959.
18. Resfeld R. A., Lewis V. J., Williams D. E. Nature, 195, 281—283, 1962.

ანტიფაგური სერატების ფრაქციებში სპეციფიური ანტისხეულების განაწილება

ძ. ბაზილიაძე, თ. კატარძე, თ. პატარიძე, ნ. ბალარჯიშვილი, ი. ბიურჯაძე

საქეშირო ჯანმრთელობის დაცვის სამინისტროს თბილისის ვაქცინებისა და სერატების სამეცნიერო-კვლევითი ინსტიტუტი

რეზიუმე

პოლიაკრილამიდურ გელში დისკ-ელექტროფორეზის მეთოდის საშუალებით მოხდა კურდღლების და ვირების სერატების დაყოფა ფრაქციებად. ვირების სერატში აღინიშნა 15—16 ფრაქცია, ხოლო კურდღლებისაში — 12—14.

ცალკეული ფრაქციების სეროლოგიური სპეციფიურობის შესწავლით იმუნო-დიფუზიისა და ნეიტრალიზაციის რეაქციების გამოყენებით დადგინდა, რომ სპეციფიური ანტისხეულების უმეტესი ნაწილი შედის Ig G ფრაქციის შემადგენლობაში, მაგრამ ანტისხეულების საგრძნობი რაოდენობა არის აგრეთვე სხვა ფრაქციებშიც, რომლებიც განსხვავდებიან Ig G ფრაქციისაგან რეაქციაში გადაადგილების სიჩქარით. აგრეთვე დადგინდა ანტიფაგურ სერატებში სპეციფიური გლობულინების განაწილების სხვაობა, ვირების სერატში (12 ფრაქცია) და კურდღლებისაში (8 ფრაქცია).

DISTRIBUTION OF SPECIFIC ANTIBODIES IN THE DIFFERENT FRACTIONS OF THE ANTIPHAGE SERA

K. K. GACHECHILADZE, T. K. PATARIDZE, T. G. CHANISHVILI, N. Sh. BALARDZHISHVILI, I. A. GEORGADZE *

Tbilisi Institute of Vaccines and Sera, Ministry of Health USSR

Summary

Rabbit and asinine antiphage sera were divided into separate fractions by using the disk electrophoresis in polyacrylamide gel. The number of fractions



in asinine sera was equal to 16 and in rabbit sera to 14—15. The investigation of antiphage activity of separate fractions by method of immunodiffusion in agar gel and by means of neutralization reaction of the phage showed that in the investigated hyperimmune sera the specific antibodies are disposed mainly in immunoglobuline G fraction but a significant part of the antibodies was present also in the other fractions of the serum. Some difference has also been found in the distribution of specific globulins in asinine (12 fractions) and rabbit (8 fractions) sera.

УДК 577.323.4.2.4

БИОФИЗИКА

КРИВЫЕ ДИФФЕРЕНЦИАЛЬНОЙ ЕМКОСТИ РТУТНОГО ЭЛЕКТРОДА В ВОДНЫХ РАСТВОРАХ НАТИВНОЙ ДНК

Н. Е. Енукидзе

Институт биохимии растений АН ГССР, Тбилиси

Поступила в редакцию 7.9.1978

Исследована зависимость формы кривых дифференциальной емкости (КДЕ) стационарного ртутного электрода в растворах нативной ДНК от условий проведения эксперимента. Показано, что при концентрациях ДНК $C_{\text{ДНК}} < 1 \text{ мкг/мл}$ регистрируются два катодных пика, при $1 \text{ мкг/мл} < C_{\text{ДНК}} < < 3 \text{ мкг/мл}$ и больших временах выдержки электрода регистрируются сложные кривые с тремя катодными и одним анодным пиками. В области концентрации $5 \text{ мкг/мл} < C < 80 \text{ мкг/мл}$ регистрируется только один пик. Дальнейшее увеличение концентрации приводит к появлению двух пиков. Показано влияние концентрации электролита и режима поляризации на форму КДЕ.

Изучение адсорбций ДНК на границе раздела ртуть — электролит может дать ценные сведения о влиянии ионной силы раствора или природы растворителя на состояние ДНК. Одним из точных методов изучения адсорбции на указанной границе раздела является мостовой метод измерения КДЕ ртутного электрода [1]. Для таких органических веществ как алифатические спирты, жирные кислоты, углеводороды разработана количественная теория, которая по параметрам КДЕ позволяет определить аналитический вид уравнения состояния адсорбата [1, 2]. Естественно попытаться тем же путем получить уравнение состояния ДНК.

Форма КДЕ ртутного электрода в растворах ДНК в значительной мере определяется типом используемого электрода и режимом его поляризации. Так например, кривые КДЕ, полученные на капельном ртутном электроде (КРЭ), имеют один катодный пик [11, 12]. КДЕ стационарного ртутного электрода (СРЭ) имеют два катодных пика при ходе поляризации от 0 до -2 В , один пик при обратном ходе поляризации [10]. Наши предварительные исследования показали, что при различных режимах поляризации меняется не только число пиков, но и общая форма КДЕ (рис. 1).

В связи с этим было решено более подробно исследовать влияние различных экспериментальных условий, обычно не влияющих на форму КДЕ при адсорбции органических соединений, на воспроизводимость КДЕ СРЭ в растворах ДНК.

МЕТОДИКА

Адсорбция ДНК изучалась на СРЭ. Измерительная установка [4] обеспечивала автоматическую регистрацию тензаметрических кривых. В минимумах и максимумах КДЕ измерения проводили на мосте переменного тока Р 568, который является составной частью измерительной схемы.

Измерения проводили в следующей последовательности: СРЭ ам держивали при потенциале максимальной адсорбции φ_m (0,6—0,7 В по НКЭ) до наступления адсорбционного равновесия (значения емкости и омического сопротивления в продолжении 3 мин не изменялись) и балансировали мост переменного тока при максимальной чувствительности нуль-индикатора. Уменьшали чувствительность нуль-индикатора до 30 децибел. На поляризуемой установке выставляли начальный потенциал φ_n и включали автоматическую развертку потенциала. $C_d - t$ (C_d — дифференциальная емкость, t — время) и $\varphi - t$ кривые одновременно записывали на сдвоенном автоматическом потенциометре «Гергас». При потенциале φ_p меняли направление поляризации. Потенциал электрода измеряли относительно нормального каломельного электрода (НКЭ).

Для удаления кислорода перед измерением через раствор в течение одного часа пропускали гелий.

РЕАКТИВЫ

КСI классификации ХЧ очищали трехкратной перекристаллизацией. Перед приготовлением раствора очищенный препарат прокаливали в течение 2 ч при 400—450°C. Коммерческий препарат высокомолекулярной ДНК из эритроцитов цыплят фирмы «Reanal», содержащий не более 1% белка, дополнительно очищали на колонке «Сефадекс» G-75.

Растворы готовились на тридистилляте. На последнем этапе перегонка воды проводилась в присутствии окислителя $KMnO_4$. Растворы фонового электролита считались чистыми, если в течение 15 мин изменение дифференциальной емкости электрода при $\varphi = -0,6$ В не превосходило 2%.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Измерения проводились в 0,20, 0,25 и 0,50 Н растворах КСИ. Концентрацию ДНК меняли от 0,6 мкг/мл до 180 мкг/мл.

В 0,2 Н КСИ при концентрации ДНК 0,6 мкг/мл $\leq C_{днк} \leq 1,2$ мкг/мл регистрируется два пика (рис. 2, кривая 1). Потенциалы пиков равны $\varphi_I = -1,2$ В и $\varphi_{II} = -1,0$ В. Дифференциальная емкость (C_d) в пиках приблизительно равна 18 мкф/см². При концентрации ДНК 1,2 мкг/мл $\leq C_{днк} \leq 3$ мкг/мл регистрируется узкий высокий пик (рис. 2, кривая 2). Потенциал пика равен $\varphi = -1,15$ В, а дифференциальная емкость $C_d = 32$ мкф/см²; с увеличением концентрации пик расширяется, а потенциал пика сдвигается в катодную область (рис. 2, кривая 3). При $C_{днк} = 40$ мкг/мл потенциал пика равен $\varphi = -1,65$ В. Увеличение концентрации ДНК приводит к появлению двух пиков при потенциалах $\varphi_I = 1,45$ В и $\varphi_{II} = 1,25$ В (рис. 2, кривая 4).

В 0,25 Н КСИ в области ДНК 5 мкг/мл $\leq C_{днк} \leq 100$ мкг/мл и в 0,5 Н КСИ при 5 мкг/мл $\leq C_{днк} \leq 180$ мкг/мл регистрируются кривые с одним пиком. Кривые с двумя пиками получены в 0,25 Н КСИ при $C_{днк} \leq 120$ мкг/мл. Потенциалы пиков равны $\varphi_I = -1,45$ В; $\varphi_{II} = -1,22$ В. В 0,5 Н КСИ два пика появляются при $C_{днк} \approx 180$ мкг/мл; их потенциалы равны $\varphi_I = -1,50$ В и $\varphi_{II} = -1,25$ В. Влияние времени выдержки электрода (потенциал выдержки $\varphi_m = -0,6$ В) на форму ДНК было изучено в области концентрации 1 мкг/мл $C_{днк} \leq 5$ мкг/мл.

На рис. 3 показаны некоторые из полученных кривых. Кривые 2 рис. 3 по форме и значению потенциалов совпадают с кривыми 3 и 4 рис. 2. Следовательно, в данном случае увеличение времени выдержки электрода дает тот же эффект, что и увеличение концентрации ДНК

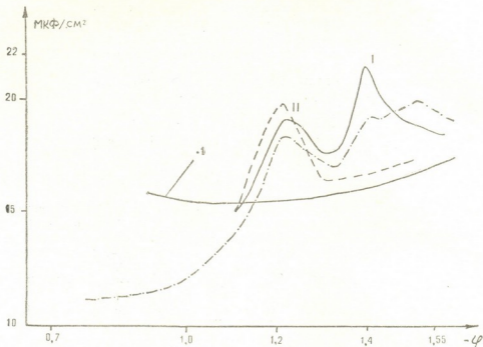


Рис. 1. КДЕ СРЕ при различных условиях поляризации электрода (фоновый электролит 0,2 Н КСl $C_{ДНК} = 84 \text{ мкг/мл}$): 1 — кривая фона; 2 — кривая прямой поляризации $\varphi_n = -0,75 \text{ В}$; 3 — кривая прямой поляризации $\varphi_n = -1,1 \text{ В}$; 4 — кривая обратной поляризации $\varphi_n = -1,6 \text{ В}$

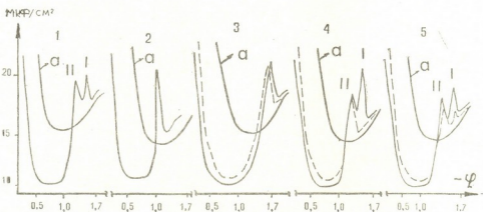


Рис. 2. КДЕ СРЕ, снятые через 3 мин после установления адсорбционного равновесия: фоновый электролит 0,2 Н КСl; концентрация ДНК: 1 — 1 мкг/мл; 2 — 3 мкг/мл; 3 — 35 мкг/мл; 4 — 80 мкг/мл; 5 — 180 мкг/мл; а — кривая фонового электролита; сплошные кривые получены при изменении поляризации от 0 до -2 В , пунктирные от -2 В до 0



Для объяснения адсорбционного и полярографического поведения ДНК существуют различные точки зрения. Согласно гипотезе Вайсберга и соавторов [15] адсорбционные участки двойной спирали под влиянием сильного электростатического поля электрода частично разворачиваются. Согласно Палечку [13] разрушение спирали вызвано двумя факторами: неоднородностью в последовательности нуклеотидов и различными конформациями по длине цепи; некоторые участки ДНК закрепляются на поверхности, а неадсорбированные участки под влиянием электростатического поля отталкиваются от поверхности и возникающее при этом напряжение разрушает двойную спираль.

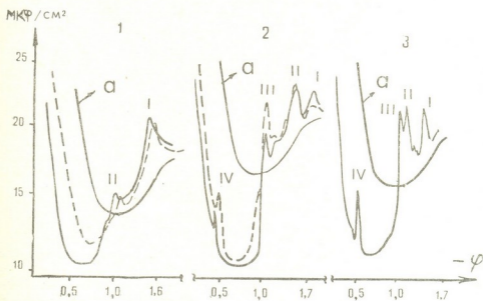


Рис. 3. КВЕ СРЭ, снятые при различном времени (б) выдержки: фоновый электролит — 0,2 N KCl; 1 — $C_{\text{ДНК}}=0,6$ мкг/мл; $t=5$ мин; 2 — $C_{\text{ДНК}}=1,45$ мкг/мл; $t=30$ мин; 3 — $C_{\text{ДНК}}=3,5$ мкг/мл; $t=15$ мин

В этих гипотезах не учитываются два важных факта; уже в 0,1 N растворах одновалентных электролитов диффузный слой практически отсутствует. Поэтому на неадсорбированные участки ДНК электростатическое поле действовать не может. И второе, так как с ростом потенциала электрода энергия адсорбции уменьшается, разворачивание двойной спирали и, следовательно, увеличение энергии адсорбции, с большей вероятностью должно происходить в области потенциалов нулевого заряда.

Согласно гипотезе Флемминга-Берга [9] при адсорбции нативной ДНК двойная спираль не разрушается, а при высоких потенциалах происходит образование ассоциатов. Потенциалы десорбции ассоциатов (пик I) и неассоциированных молекул (пик II) (рис. 2, кривая 5) равны соответственно $\varphi_1 = -1,45$ В и $\varphi_2 = -1,25$ В.

Гипотеза Флемминга-Берга подтверждается исследованиями по адсорбции на СРЭ таких полимеров, как тилоза и тритон X-102 [8].

Два катодных пика получены также на КВЕ СРЭ в растворах белков [6]. Следовательно, образование ассоциатов на поверхности электрода является характерным свойством высокомолекулярных соединений.

Наши данные, полученные в области концентрации ДНК (5 мкг/мл

$\leq C_{\text{ДНК}} \leq 180 \text{ мкг/мл}$), также подтверждает эту гипотезу. Выше было показано, что в этой области при низких концентрациях регистрируется один пик, а при высоких — два пика. Подобная же картина наблюдается при адсорбции органических молекул, способных к образованию мицеллярных пленок (ассоциатов), — и в этом случае при низких концентрациях регистрируется один пик, а при высоких — два пика [7].

Форма кривых 1 и 2 (рис. 3) не противоречит гипотезе Флемминга-Берга, так как при большем времени выдержки электрода, за счет накопления молекул ДНК на поверхности электрода, можно ожидать образование ассоциатов. Однако не все результаты, полученные нами, могут быть объяснены в рамках этой гипотезы. Существование двух пиков в области концентрации $0,6 \div 1,2 \text{ мкг/мл}$ вряд ли можно приписать образованию ассоциатов. Если же допустить такую возможность, то тогда непонятно, почему в области более высоких концентраций ДНК регистрируется один пик.

Для анализа полученных данных в первую очередь следует убедиться в том, что КДЕ с одним пиком описывает процесс адсорбции— десорбции неассоциированных молекул. Действительно, раз на КДЕ имеется один пик, то он должен соответствовать или десорбции только неассоциированных молекул или десорбции только ассоциатов. Но так как при дальнейшем увеличении концентрации ДНК появляются два пика, то КДЕ с одним пиком описывает десорбцию неассоциированных молекул. В противном случае следовало бы допустить, что с увеличением концентрации ДНК ассоциаты, образующиеся на поверхности, распадаются.

Сравнение потенциалов пиков на кривых 2 и 4 (рис. 2) показывает, что потенциал десорбции и, следовательно, энергия десорбции ассоциатов меньше, чем неассоциированных молекул. В то же время, согласно гипотезе Флемминга-Берга, ассоциаты десорбируются при больших значениях отрицательного потенциала (такой же вывод следует из теории и экспериментальных данных по адсорбции органических молекул). Чтобы разрешить это противоречие, приходится предположить, что пик на кривой 4 и пик II на кривой 2 (рис. 2) соответствуют двум различным состояниям неассоциированных молекул ДНК.

Пик II кривых 2 и 3 (рис. 3) и пик I кривых 4 и 5 (рис. 2) появляются в области потенциалов $-1,45 \text{—} -1,50 \text{ В}$, что может служить доказательством образования ассоциатов на поверхности электрода при большем времени его выдержки. Пик III кривых 2 и 3 (рис. 3) и пик 2 кривой 4 (рис. 2), а также пик I кривой 3 (рис. 3) и пик I кривой 3 (рис. 2) по форме и потенциалу совпадают. Потенциал пика II $\varphi_{\text{II}} = -1,22 \text{ В}$ кривой 3 (рис. 2) меньше потенциала десорбции ассоциатов и регистрируется совместно с пиком III ($\varphi_{\text{III}} = -1,18 \text{ В}$). Следовательно, неассоциированные молекулы ДНК на поверхности электрода могут находиться по крайней мере в трех различных состояниях, соответствующих пикам I кривой 1 и пикам II, III кривой 4 (рис. 3). Различные состояния ДНК могут быть обусловлены изменением числа адсорбированных сегментов в пересчете на одну молекулу, внутримолекулярными конформационными переходами типа $\text{B} \rightarrow \text{C}$, $\text{B} \rightarrow \text{A}$ и изменением характера взаимодействия между адсорбированными сегментами. Все эти эффекты могут быть вызваны изменением приэлектродной концентрации катионов. Экспериментальные исследования и теоретические расчеты [3] показывают, что при изменении потенциала ртутного электрода в пределах $0 \pm 1,75 \text{ В}$ концентрация одновалентных катионов меняется в пределах $0 \text{—} 10 \text{ М/л}$. С увеличением значения отрицательного потенциала концентрация катионов растет.



Если на поверхности электрода адсорбирована ДНК, то увеличение концентрации катионов может вызвать не только изменение характера взаимодействия между адсорбированными сегментами (за счет экранирования фосфатных групп), но и переходы типа $B \rightarrow C$ и $B \rightarrow A$ [5] за счет понижения активности воды в приэлектродном слое.

Пик IV (рис. 3, кривые 2, 3) в растворах нативной и денатурированной ДНК обнаружен и исследован Палечком [14]. В наших экспериментах этот пик регистрировался только в 0,2 N KCl при малых объемах концентрациях ДНК и большом времени выдержки электрода.

Такое разнообразие форм КДЕ приводит к заключению, что получение данных, пригодных для количественных расчетов, потребует намного точнее (чем это требуется при изучении адсорбции органических соединений) воспроизводить условия проведения эксперимента, а именно режим поляризации, время выдержки и режим продувки раствора инертным газом.

ЛИТАРАТУРА

1. Дамаскин Б. Б., Петрий О. А., Батраков В. В. Адсорбция органических соединений на электродах, «Наука», М., 1968.
2. Дамаскин Б. Б. Электрохимия, 6, 1135—1139, 1970.
3. Делахей П. Двойной слой и кинетика электродных процессов, «Мир», М., 1967, 53—54.
4. Енукидзе Н. Е. Сообщения АН ГССР, 68, 3, 709—712, 1972.
5. Иванов В. И. В сб.: Молекулярная биология, I, ВИНТИ, М., 1973, 105—106.
6. Кузнецов Б. А., Шумаков И. Г. М. В сб.: Адсорбция и двойной электродный слой в электрохимии, «Наука», М., 1972, 227—234.
7. Мелик-Кайказян В. И. Журнал физической химии, 26, 8, 1184—1190, 1952.
8. Flemming J. Bioelectrochem. Bioenergetics, 1, 459—465, 1974.
9. Flemming J. Bioelectrochem. Bioenergetics, 2, 79—88, 1975.
10. Flemming J. Biopolimers, 12, 1975—1988, 1973.
11. Miller J. R. J. Mol. Biol., 3, 229—240, 1961.
12. Miller J. R. J. Mol. Biol., 3, 357—361, 1961.
13. Paleček E. Collect. Czech. Chem. Commun., 39, 3449—3455, 1974.
14. Paleček E. Collect. Czech. Chem. Commun., 31, 2360—2373, 1966.
15. Valenta P., Nurenberg H., Klaner P. Bioelectrochem. Bioenergetics, 1, 487—493, 1974.

ვერცხლისწყლის ელექტროდის დიფერენციალური ტიპადობის მრუდები ნატივური დნმ-ის წყალხსნარებში

6. შეჯამება

საქართველოს სსრ მეცნიერებათა აკადემიის გენერალთა ბიოქიმიის ინსტიტუტი, თბილისი

რ ე ბ ი უ მ ე

გამოკვლეულია ვერცხლისწყლის სტაციონარული ელექტროდის დიფერენციალური ტიპადობის მრუდების (დტმ) ფორმის დამოკიდებულება ელექტროდის რეჟიმისა და ელექტროლიტის (KCl) და დნმ-ის კონცენტრაციაზე KCl-ის კონცენტრაცია იცვლებოდა 0,2—0,5 N; დნმ-ისა კი 0,6—180 ყ/მლ ფარგლებში. პოტენციალის ცვლილება და დტმ-ის რეგისტრაცია ავტომატიზებული იყო. შესწავლილია ადსორბციული წონასწორობის დამყარების შემდეგ ელექტროდის დაყოვნების დროის გავლენა დტმ-ის ფორმაზე: ნაჩვენებია, რომ



თუ ელექტროდის დაყოვნების დრო 3 წუთს არ აღემატება, $\Delta E_{\text{მ}}$ -ის დაბალი (Cდნმ < 1,2 $\gamma/\text{მლ}$) და მაღალი (Cდნმ \approx : 80—18 $\gamma/\text{მლ}$) კონცენტრაციების კათოდურ უბანში ორი პიკი აღინიშნება. შუალედური კონცენტრაციების შემთხვევაში მხოლოდ ერთი პიკი აღინიშნება.

თუ ელექტროდის დაყოვნების დრო არის 5—30 წუთი, ხოლო $\Delta E_{\text{მ}}$ -ის კონცენტრაცია 1,4 $\gamma/\text{მლ}$, $\Delta E_{\text{მ}}$ -ის კათოდურ უბანში სამი პიკი ჩანს. ანოდური პიკი მიღებულია მხოლოდ 0,2 N KCl და $\Delta E_{\text{მ}}$ -ის დაბალი კონცენტრაციებისას.

DIFFERENTIAL CAPACITY CURVES OF MERCURY ELECTRODE IN DNA SOLUTION

N. E. ENUKIDZE

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

S u m m a r y

Dependent forms of the differential capacity curves (DCC) of the hanging mercury drop electrode on the electrolytic (KCL), DNA concentration and polarization regimen were studied. KCL concentration ranged from 0.2—0.5 N, DNA from 0.6 γ/ml to 180 γ/ml . Change of the electrode potential and DCC record were automatized. The influence of the electrode time constant after the onset of adsorption equilibrium on the DCC shape was studied. It has been demonstrated that at short constant time and low (< 1.2 γ/ml) and high (\approx 80—180 γ/ml) DNA concentrations two cathodic peaks can be registered, while at moderate concentrations only one peak is recordable.

If the electrode time constant is 5—30 min, and DNA concentration is 1.4 γ/ml , three peaks can be recorded in the cathodic area. Anodic peak has been obtained only for 0.2 N KCL and low concentrations of DNA.

УДК 612.744.14

БИОФИЗИКА

ВЛИЯНИЕ ПРОТЕИНА М НА СОКРАТИТЕЛЬНЫЕ СВОЙСТВА МИОЗИНА В И СИНТЕТИЧЕСКОГО АКТОМИОЗИНА С РАЗНЫМИ СООТНОШЕНИЯМИ МИОЗИН/АКТИН

Г. В. Микадзе, Н. И. Гогнадзе, М. М. Заалишвили

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

Поступила в редакцию 15.7.1977

На основе изучения сократительных свойств пленочных нитей миозина В и синтетического актомиозина в присутствии и отсутствии протеина М, высказано предположение, что высокая сократительная способность обычных препаратов миозина В по сравнению с синтетическим актомиозином обусловлена присутствием протеина М в препаратах миозина В.

Синтетический актомиозин проявляет максимальную сократительную способность при соотношении миозин/актин 3:0,75, а в присутствии протеина М максимальная сократительная способность проявляется при соотношении 3:0,25 — 3:0,5. При этом сократимость последних выше, чем нитей синтетического актомиозина при соотношении миозин/актин 3:1, 3:0,75, но без протеина М.

Основываясь на ранее полученных данных о том, что в присутствии протеина М синтетический актомиозин обладает низкой вязкостью и на факте, что в присутствии протеина М низкое содержание актина в актомиозиновом комплексе достаточно для проявления высокой сократительной способности, высказывается предположение, что протеин М модифицирует актомиозиновый комплекс.

В течение ряда лет нами изучались сократительные свойства пленочных нитей миозина В поперечнополосатых и гладкой мышц. Было установлено, что миозин В поперечнополосатой мышцы обладает большей сократительной способностью по сравнению с миозином В гладкой мышцы, сократительная способность которого уменьшается при его переосаждении водой [4, 2]. Снижается сократимость и миозина В поперечнополосатой мышцы в результате его многократного переосаждения при 25—30°C [5]. Добавление водного экстракта мышцы к таким препаратам миозина В вызывает усиление их сократительной способности. При этом происходит усиление и ускорение сократительной способности миозина В гладкой мышцы [4, 2] и восстановление сократимости до исходного уровня миозина В поперечнополосатой мышцы [5]. Из водного экстракта мышцы желудка и из миозина В поперечнополосатой мышцы нами был выделен белковый компонент, усиливающий сокращение миозина В, индуцированное АТФ, и названный протеином М [3].

Он выпадает из водного экстракта мышцы при насыщении сульфатом аммония в пределах 0,2—0,4. Изoeлектрическая точка протеина М — рН 5. С целью исследования механизма действия протеина М в данной работе изучено его влияние на сократительные свойства миозина В и синтетического актомиозина с разным соотношением миозин/актин.



Миозин В получали по Сент-Дьердьи [8], актин — по Рису [12], миозин — по Пери [11], протени М — по ранее описанной методике [6]. Получение пленочных нитей миозина В и синтетического актомиозина и измерение их сократительной способности производили по Заалишвили и Микадзе [1]. Вязкость измеряли вискозиметром Оствальда со спиральным капилляром (время истечения воды 37,5 с при 20°C).

Изучение свойств синтетического актомиозина производили спустя один час после смешивания миозина с актином. Для исследования влияния протени М на сокращаемость миозина В и синтетического актомиозина протени М инкубировали с миозином В и с синтетическим актомиозином в течение часа и более. Протени М брался в количестве 10% по отношению к миозину В или синтетическому актомиозину.

Концентрацию белка определяли по микробиурету.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

Пленочные нити из миозина В поперечнополосатой мышцы (полученного 24-часовой экстракцией раствором Губа-Штрауба) обычно сокращаются на 50—60% (рис. 1, кривая 4). Но в ряде случаев при 24-часовой экстракции получали миозин В, который обладал низкой сократимостью (рис. 1, кривая 1). Однако при 48-часовой экстракции

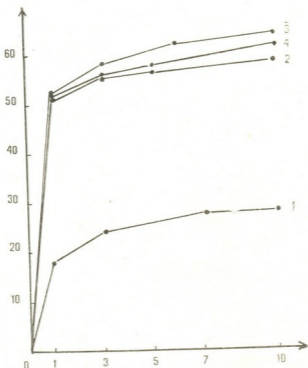


Рис. 1. Сокращение нитей миозина В под влиянием АТФ. 1 — миозин В, полученный 24-часовой экстракцией; 2 — миозин В, полученный 48-часовой экстракцией; 3 — миозин В, полученный 24-часовой экстракцией + протени М; 4 — обычный препарат миозина В. Состав среды: 0,05 М КСl, 10⁻⁴М MgCl₂, 0,02 М веронал-веронал-кальциевый буфер, рН 7,5, 5·10⁻³М АТФ, температура 37°C. На оси ординат отложено сокращение в %, а на оси абсцисс — время в минутах

получали миозин В нормальной сократимости (рис. 1, кривая 2). При добавлении протеина М к миозину В низкой сократимости происходило усиление и ускорение сокращения (рис. 1, кривая 3). Было замечено впечатление, что иногда при 24-часовой экстракции экстракция протеина М не происходит в достаточном количестве. Но на некоторые препараты миозина В, обладающие низкой сократимостью, протеин М оказывал слабое влияние (рис. 2).

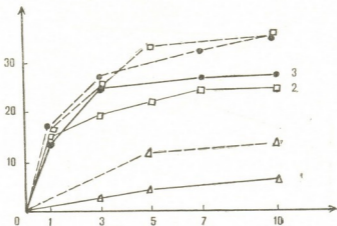


Рис. 2. Сокращение нитей миозина В под влиянием АТФ: 1, 2, 3 — различные препараты миозина В. Сплошная линия — без протеина М, пунктирная — с протеином М. 1 — \triangle , 2 — \square , 3 — \bullet . Условия опыта и обозначения те же, что на рис. 1

Для выяснения причин низкой сократительной способности и пониженной чувствительности некоторых препаратов миозина В к протеину М было проведено сравнительное изучение вязкости этих и нормальных препаратов миозина В. Выяснилось, что они содержали актин в меньшем количестве по сравнению с обычными препаратами.

Это давало основание полагать, что одной из причин низкой сократительной способности некоторых препаратов миозина В было малое содержание в них актина. Мы предположили, что различная чувствительность препаратов миозина В к протеину М также была вызвана неодинаковым содержанием в них актина. Видимо, препараты, менее чувствительные к протеину М, содержали актин в количестве меньшем, чем требовалось для проявления заметного влияния протеина М.

Для проверки этих предположений к препарату миозина В с низкой сократительной способностью и слабой чувствительностью к протеину М добавляли разные количества актина (миозин В/актин — 3:0,125, 3:0,25, 3:0,5, 3:1) и изучали сократимость этих смесей в присутствии и отсутствии протеина М. Результаты опытов представлены на рис. 3. Из рисунка видно, что при увеличении количества актина происходит повышение сокращения, максимум которого (40%) достигается при соотношении 3:1. Видно также, что при увеличении количества актина препараты миозина В стали более чувствительными к протеину М. Максимальное влияние протеина М проявилось при соотношении миозин В/актин 3:0,25. При таком соотношении, в присутствии протеина М, миозин В сокращался как обычно (рис. 3, кривая 7).

Таким образом, было выяснено, что низкая сократительная способность некоторых препаратов миозина В была вызвана низким содержанием в них актина и протеина М.



ВНИИХ
БИОХИМИИ
АКАДЕМИИ НАУК
СССР

Изучение причин получения из поперечнополосатой мышечной ткани 24-часовой экстракции миозина В с низкой сократительной способностью показало, что такие препараты получают, когда мышца вырезается из животного сразу после забоя, быстро измельчается и тут же переносится в экстрагирующий раствор (экстракция при 0°C).

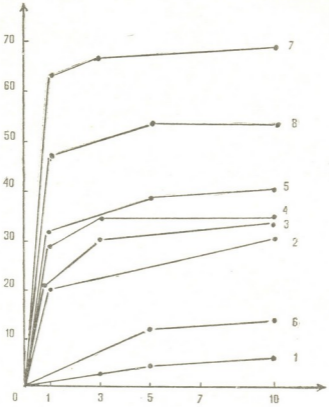


Рис. 3. Сокращение пленочных нитей миозина В с разным содержанием актина: 1 — миозин В; 2 — миозин В/актин — 3:0,25; 3 — миозин В/актин — [3:0,37; 4 — миозин В/актин — 3:0,5; 5 — миозин В/актин — 3:1; 6 — миозин В+протеин М; 7 — миозин В/актин — 3:0,25+протеин М; 8 — миозин В, полученный 48-часовой экстракцией. Условия опыта и обозначения те же, что на рис. 1

В отдельной серии опытов изучалось влияние протеина М на сократимость синтетического актомиозина при разных соотношениях миозин/актин. Из рис. 4 видно, что максимальную сократимость (40%) проявляет синтетический актомиозин с соотношением миозин/актин 3:0,75, т. е. 4:1 (рис. 4, кривая 4). По литературным данным оптимальное стехеометрическое соотношение миозин/актин поперечнополосатой мышце приблизительно 4:1 [9, 10].

Дальнейшее увеличение количества актина (3:1, 3:1,25) не повысило сократительную способность (рис. 4, кривые 5, 6). Но в присутствии протеина М синтетический актомиозин уже при соотношении миозин/актин 3:0,25 сокращается на 50% (рис. 4). Увеличение содержания актина (3:0,5) давало максимальный эффект (65%). Последующее увеличение же (3:1, 3:1,25) не меняло сократимости. Как видно из рис. 4, в присутствии протеина М максимальную сократительную способность актомиозин проявляет при соотношении миозин/актин 3:0,25 и 3:0,5. При

этом как скорость, так и степень укорачивания пленочных нитей синтетического актомиозина с соотношением миозин/актин 3:0,25 в 1,40 раз выше, чем синтетического актомиозина с соотношением 3:0,75 без протеина М.

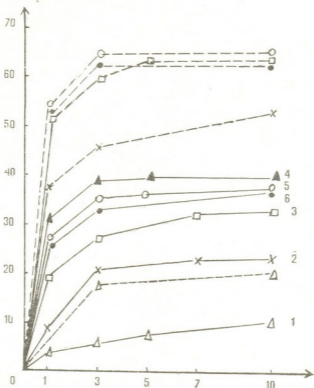


Рис. 4. Сокращение пленочных нитей синтетического актомиозина с разным соотношением миозин/актин: 1 — миозин/актин—3:0,12 (— Δ —); 2 — миозин/актин—3:0,25 (— X —); 3 — миозин/актин — 3:0,5 (— \square —); 4 — миозин/актин—3:0,75 (— \blacktriangle —); 5 — миозин/актин — 3:1 (— \circ —); 6 — миозин/актин — 3:1,25 (— \bullet —). Сплошная линия — без протеина М, пунктирная — с протеином М. Условия опыта и обозначения те же, что на рис. 1

Сравнением экспериментов, приведенных на рис. 3 и 4, видно, что протеин М оказывает одинаковое влияние на сократимость миозина В и синтетического актомиозина. Видимо, присутствие других белков в миозине В не влияет на взаимодействие протеина М с актомиозином.

Надо отметить, что натуральный актомиозин (обычные препараты миозина В) обладает большей сократительной способностью — 60% (рис. 1, кривая 4), чем синтетический актомиозин — 40% (рис. 4, кривая 4). Это можно объяснить присутствием протеина М в миозине В.

Для выяснения механизма действия протеина М на сократимость актомиозина нами ранее было изучено влияние протеина М на актин, миозин и синтетический актомиозин методом вискозиметрии. Было установлено, что протеин М не влияет на вязкость F актина и миозина, но синтетический актомиозин, образованный в присутствии протеина М, обладает низкой вязкостью [7] и его пленочные нити в присутствии протеина М являются менее прочными. В связи с этими данными интересно отметить, что препараты миозина В являются менее вязкими, чем синтетического актомиозина и одной из причин этого, исходя из



ვლიანია პროტენა M ნა ვიკოწკო სინთეტიკო აქტომიოზინა, მოქეთ
 ბუქე პრეწუტე ვიკოწკო პროტენა M ვ მიოზინე B.

პრინიმია ვო ვნიმანიე, ქო ვ პრეწუტე ვიკოწკო პროტენა M სინთეტიკო
 კიქ აქტომიოზინი ობლადეთ მენქიე ვიკოწკო, ქემ ბეზ ნეგო, ი მიოზინ
 B, პო სრავნიეწო ს სინთეტიკო აქტომიოზინო, თაკჷ მენე ვიკიქ, მოქო
 პრეწუტე, ქო პროტენი M ვიდიოქმენიე აქტომიოზინოვიქ კომპლექსე.

ოსოვნიეწო ნა ფაქტე, ქო პროტენი M ომენქიე ვიკოწკო ი ვმეწე
 ს თემ ოსილნიე ი ოსკორიე სოკრაციე აქტომიოზინა, ბილო ვიკოწკო
 პრეწუტე, ქო პროტენი M თაკიმ ობრომ ვიდიოქმენიე კომპლექსე,
 ქო ობლექიე სოკრაციე, ვიკოწკო ატფ [7]. ოქო პრეწუტე სოგლასიეწო
 ს ვიქნეპრეწუტეწი ნი მონი, კოქოე პოკივიეწო, ქოქოე პოკივიეწო, ქოქოე
 დია პრეწუტეწი ვიკოწკო სოკრაციეწი სპოწიე აქტომიოზინოვიქ კომპლექსე
 ვ პრეწუტეწი პროტენა M დოწკოწკო ი ნიკოკო სოქრაციეწი აქტინა ვ ნემ.

ვიდიოქმენიე აქტომიოზინოვიქ კომპლექსე პროტენო M, კოქოე
 პრეწუტეწი ვ თაკიქ ფიკიკო-ქიმიკეწი პარამეტრე, კაკ ზამედნიე
 პოლიმერიზაციე აქტინა, პადენიე ვიკოწკო აქტომიოზინა, ოსილნიე ი ოსკორენი
 სოკრაციე აქტომიოზინოვიქ კომპლექსე, ნედოწკოწკო დია ვიკოწკო
 თონკო მექანიკი დეიქტე პროტენა M. ვოქნე ნუქიეწი დია
 ვ დოწკოწკო იქმენიე.

ლიტერატურა

1. ჯაალიშვილი მ. მ., მიკაძე გ. ვ. *ბიოქიმია*, 24, 612—624, 1959.
2. ჯაალიშვილი მ. მ., მიკაძე გ. ვ. *ბიოქიმია*, 29, 801—811, 1964.
3. ჯაალიშვილი მ. მ., მიკაძე გ. ვ., სურგულაძე თ. თ. *სოოქმენიე ან გსსრ*, 44, 1, 99—106, 1966.
4. მიკაძე გ. ვ. *სოოქმენიე ან გსსრ*, 31, 2, 295—301, 1963.
5. მიკაძე გ. ვ. *სოოქმენიე ან გსსრ*, 59, 2, 453—456, 1970.
6. მიკაძე გ. ვ., გოგნიძე ნ. ი., ჯაალიშვილი მ. მ. *იქვ. ან გსსრ, სერ. ბიოლ.*, 1, 1, 104—106, 1975.
7. მიკაძე გ. ვ., გოგნიძე ნ. ი., ჯაალიშვილი მ. მ. *იქვ. ან გსსრ, სერ. ბიოლ.*, 3, 1, 81—86, 1977.
8. სენტ-დუქრდი ა. ვ სბ.: *ო მიქეწიქი დეიქტეწი*, მედგის, მ., 1947, 98—100.
9. Gonway G., Heoxlitt R., Roberts J. L., Stewart L. *Circular Res.*, 24, 5, 657—670, 1959.
10. Nanninya L. B. *Biochim. Biophys. Acta*, 82, 507—517, 1964.
11. Perry V. S. *Methods in Enzymology*, 11, 583—589, 1955.
12. Rees M. K., Yang M. J. *Biol. Chem.*, 242, 4449—4458, 1967.

პროტეინე M-ის გავლენა მიოზინე B-ს დო სინთეზური აქტომიოზინის
 შეკუმშვადობაზე მიოზინე/აქტინის სხვადასხვა შეფარდებისას

ბ. შივაძე, ნ. ბოზნაძე, მ. ჯაალიშვილი

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

რეზიუმე

პროტეინე M-ის მონაწილეობითა დო მის გარეშე შესწავლილ იქნა მიოზინ
 B-სა დო სინთეზური აქტომიოზინის შრიული ქაქეების შეკუმშვის უნარი. ამ
 ცდების შედეგად დოვასკენიე, რომ მიოზინე B-ს სინთეზური აქტომიოზინთან
 შედარებით იმიტომ გეაჩნიე უფრო მაღალი შეკუმშვადობის უნარი, რომ იგო
 შეიციევეს პროტეინე M-ს.

სინთეზური აქტომიოზინის შრიული ძაფების მაქსიმალური შეკუმშვის უნარი მაშინ იჩენს თავს, როცა მიოზინ/აქტინის შეფარდება არის 3:0,75, მაგრამ თუ აქტომიოზინის შეკუმშვის უნარს შევისწავლით პროტეინ M-ის მონაწილეობით, სინთეზური აქტომიოზინი მაქსიმალურ შეკუმშვის უნარს ამჟღავნებს უკვე 3:0,25 და 3:0,5 შეფარდების დროს. თანაც ამ დროს შეკუმშვა-დობა უფრო მაღალია, ვიდრე 3:0,75 შეფარდების დროს, როცა სინთეზური აქტომიოზინის შეკუმშვა ხდება პროტეინ M-ის მონაწილეობის გარეშე. ვინაიდან პროტეინი M ასეთ ვაგლენას ახდენს აქტომიოზინურ კომპლექსზე, უნდა დავასკვნათ, რომ პროტეინი M იწვევს აქტომიოზინური კომპლექსის მოდიფიცირებას.

THE INFLUENCE OF PROTEIN M ON CONTRACTILE PROPERTIES OF MYOSIN B AND SYNTHETIC ACTOMYOSIN AT DIFFERENT RATIOS OF MYOSIN/ACTIN

G. V. MIKADZE, N. I. GOGNADZE, M. M. ZAALISHVILI

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

Summary

On the basis of the study of contractile properties of layer threads of myosin B and synthetic actomyosin in the presence and in the absence of protein M, it is suggested that high contractility of myosin B preparations compared with the synthetic actomyosin is due to the presence of protein M in the myosin B preparations.

Synthetic actomyosin shows the greatest contractility at the ratio of myosin/actin 3:0.75, but in the presence of protein M at the ratios 3:0.25—3:0.5. Moreover, contractile properties of the latter are higher, than those of the synthetic actomyosin threads at the ratios of myosin/actin 3:1, 3:0.75 but without protein M.

The foregoing suggests that protein M modifies the actomyosin complex.

НДК 576.311.2.001.57

БИОНИКА И БИОКИБЕРНЕТИКА

БИОЛОГИЧЕСКИЕ ОСНОВЫ МОДЕЛИ ГЕТЕРОТРОФНОЙ КЛЕТКИ

М. К. Бабунашвили, Б. С. Зильберфарб

Поступила в редакцию 3.5.1977

Показана центральная роль биостроительных блоков в клеточном метаболизме, и строится функциональная схема клетки. Доказывается, что при наличии генетической информации в клетке и определенных экзогенных веществ во внеклеточной среде рассматриваемые авторами пять одноцелевых взаимосвязанных классов биопроизводств являются необходимыми и достаточными для обеспечения структурной целостности и адекватного поведения гетеротрофной клетки. Тем самым доказывается адекватность предлагаемой функциональной схемы — основы для математического моделирования гетеротрофной клетки.

РОЛЬ БИОСТРОИТЕЛЬНЫХ БЛОКОВ В КЛЕТОЧНОМ МЕТАБОЛИЗМЕ И ФУНКЦИОНАЛЬНАЯ СХЕМА КЛЕТКИ

Функциональная схема клеточного метаболизма, построенная в работе [1], позволила представить все метаболические пути в виде пяти взаимосвязанных классов биопроизводств, сохраняющих все связи исходной схемы метаболических путей. Данное представление метаболических путей является одним из возможных вариантов компактного представления схем, которые публикуются в биохимической литературе и отличаются друг от друга в основном различной степенью детализации. Исходя из предлагаемой схемы клеточного метаболизма [1], можно видеть, что здесь два класса биопроизводств, непосредственно удовлетворяющих трех клеточных потребителей, нуждаются в качестве исходных веществ только в биостроительных блоках. Класс биопроизводств, удовлетворяющих абстрактного потребителя биомолекул, в качестве исходных веществ использует также форму, в которой хранятся запасы метаболического топлива [1]. Однако, если в этом случае биостроительные блоки являются необходимым исходным веществом для данного класса биопроизводств, то запасы используются здесь лишь в случае их наличия.

Аналогично в классе биопроизводств, поставляющих энергию, необходимым исходным веществом являются биостроительные блоки. Что же касается продуктов неполного окисления биостроительных блоков и запасов, то они используются в качестве таковых лишь в случае их наличия.

Для синтеза рабочих групп упомянутых классов в качестве исходных веществ используются опять-таки биостроительные блоки [1]. Необходимые же для функционирования последних биопроизводств витамины поступают из внеклеточной среды. Неорганические соединения, используемые биопроизводствами (например кислород), также поступают в клетку извне.

Итак, рассмотрев функциональную схему клеточного метаболизма, можно заключить, что для функционирования биопроизводств, удов-



летворяющих спрос всех биопотребителей (включая их обеспечение рабочими группами и энергией), необходимо наличие в качестве исходных веществ биостроительных блоков, а также некоторых веществ, поступающих в готовом виде из внеклеточной среды.

Таким образом, посредством комплексного рассмотрения конечных целевых продуктов и необходимых исходных веществ (биостроительных блоков) устанавливается четкая взаимосвязь между рассмотренными выше тремя классами биопроизводств. Указанное необходимое разнообразие биостроительных блоков обеспечивается соответствующим классом биопроизводств из поступающих пищевых макромолекул, а также из имеющихся в наличии биостроительных блоков или формы хранения их запасов.

И, наконец, последний класс биопроизводств дает возможность перевести имеющийся в данный момент избыток биостроительных блоков в удобную для хранения форму, а также освободить клетку от уже нефункционирующих веществ, переводя их в удобную для выведения форму. Тем самым клетка освобождается от токсичных соединений, что способствует нормальному протеканию всех процессов в клетке [5].

Установленная таким образом взаимосвязь и взаимосогласованность между пятью классами биопроизводств дает возможность выявить центральную роль биостроительных блоков и построить функциональную схему клетки (рис. 1). Эта схема, в отличие от функциональной схемы клеточного метаболизма, приведенной в работе [1], отражает логику удовлетворения трех клеточных потребителей с помощью пяти классов биопроизводств, причем здесь имеется возможность проследить за судьбой каждой группы биомолекул, начиная от источников этих биомолекул вплоть до их использования или выведения из клетки. Эта схема учитывает также то, что источником некоторых веществ, участвующих в клеточном метаболизме, является кровеносная система. На рис. 1 классы биопроизводств показаны жирными стрелками, причем номера, которые сопровождают стрелки, указывают на класс биопроизводств, перечень которых с соответствующими номерами приводится ниже. Необходимо еще раз подчеркнуть, что для функционирования любого биопроизводства необходимо использование определенного набора рабочих групп и энергии. Их участие на рис. 1 не отмечено.

ТЕОРЕТИЧЕСКОЕ ОБОСНОВАНИЕ АДЕКВАТНОСТИ ФУНКЦИОНАЛЬНОЙ СХЕМЫ КЛЕТКИ

Данный раздел вытекает из основных результатов, изложенных нами в цикле работ по биологическим аспектам идентификации клетки [2, 3]. Исходным положением, лежащим в основе этих результатов, является положение о том, что каждая клетка представляет собой подсистему, выполняющую специфическую функцию, необходимую системе, составной частью которой она является. Обеспечение всевозможных аспектов функционирования клеток, будь то выполнение специфической функции, деление, развитие и тому подобные проявления их деятельности, на сегодняшний день принято объяснять наличием трех внутриклеточных процессов [5]: процесса активного переноса; процесса сокращения; процесса биосинтеза.

Обеспечение возможности осуществления каждого из трех внутриклеточных процессов позволяет клетке быть готовой к своей функциональной деятельности. Вышеперечисленные процессы соответственно обуславливают наличие трех клеточных потребителей [2]. Удовлетворение указанных биопотребителей, являющееся основной функцией клеточного метаболизма, определяет возможность осуществления указан-

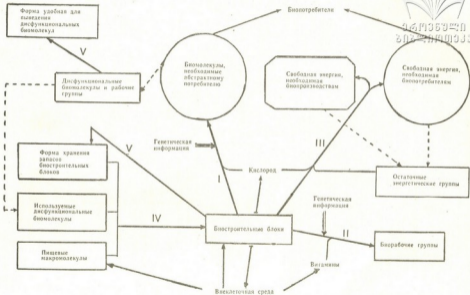


Рис. 1. Функциональная схема клетки



ных процессов, они же, со своей стороны, обеспечивают как структурную целостность клетки, так и ее готовность к выполнению любой функции в биосистеме. Тем самым открывается возможность переключить логический мостик между удовлетворением спроса биопотребителей, обеспечением внутриклеточных процессов и функциональной деятельностью клетки.

Итак, любую гетеротрофную клетку можно представить в виде системы, состоящей из трех биопотребителей [2]: 1) процесс активного переноса — потребитель энергии фосфатной связи АТФ; 2) процесс сокращения и передвижения — потребитель энергии фосфатной связи АТФ; 3) абстрактный потребитель биомолекул; и пяти одноцелевых, определенным образом взаимосвязанных классов биопроизводств, в виде которых представлен клеточный метаболизм [1]:

I класс — биопроизводства, удовлетворяющие абстрактного потребителя биомолекул;

II класс — биологические производства рабочих групп;

III класс — биопроизводства, поставляющие энергию;

IV класс — биопроизводства биостроительных блоков;

V класс — биопроизводства, преобразующие продукты метаболизма в удобную для хранения, транспортировки или выведения форму.

Теперь имеется возможность подойти к теоретическому решению проблемы определения минимальной клетки [4]. Для этого докажем следующее утверждение: при наличии генетической информации в клетке, а также определенных экзогенных веществ во внеклеточной среде, пять вышеперечисленных одноцелевых взаимосвязанных классов биопроизводств являются необходимыми и достаточными для обеспечения структурной целостности и адекватного поведения (функционирования) гетеротрофной клетки.

Достаточность этого утверждения означает, что никаких классов биопроизводств в дополнение к уже перечисленным не требуется для обеспечения жизнедеятельности клетки при наличии генетической информации и соответствующих веществ во внеклеточной среде. Необходимость же этого утверждения означает, что функционирование и структурная целостность клетки не будут обеспечены при отсутствии хоть одного из вышеперечисленных классов биопроизводств.

Так как ранее была показана жесткая взаимосвязь между жизнеспособностью клетки и обеспечением трех клеточных потребителей, то вышеформулированное утверждение можно переформулировать следующим образом: при наличии генетической информации в клетке и определенных экзогенных веществ во внеклеточной среде пять одноцелевых взаимосвязанных классов биопроизводств являются необходимыми и достаточными для удовлетворения клеточных потребителей. Приступим к доказательству этого утверждения.

Пусть в клетке имеются пять одноцелевых классов биопроизводств.

V класс биопроизводств, переводя дисфункциональные и токсичные соединения в удобную для выведения форму, тем самым подготавливает основу для беспрепятственного действия процесса активного переноса, а также для обеспечения переноса веществ посредством диффузии, т. е. для поступления экзогенных веществ в клетку. Другими словами, наличие рассматриваемого класса биопроизводств превращает клетку в открытую систему. Свойство открытости — важнейшее свойство любой сложной системы, сохранение жизнеспособности которой осуществляется посредством постоянного обмена веществом, энергией и информацией со средой.

IV класс биопроизводств позволяет перевести поступившие пищевые макромолекулы в биостроительные блоки, а также из уже имею-

шихся резервов клетки создать необходимое разнообразие биостроительных блоков.

Клетка — активная система. Это свойство выражается ее самостоятельностью и целенаправленностью функционирования. При этом со средой или с биологической суперсистемой, элементом которой она является, клетка взаимодействует как нечто целое. Указанная активность клетки, заключающаяся в целесообразной координации и управлении согласованным функционированием клеточных субединиц, достигается работой, выполняемой определенным, довольно большим по количеству и разнообразию, набором биорабочих групп. Обеспечение биорабочими группами как вышеперечисленных, так и всех оставшихся классов биопроизводств осуществляется II классом биопроизводств, использующим уже созданное разнообразие биостроительных блоков и соответствующую генетическую информацию.

III класс биопроизводств позволяет из определенного, уже имеющего набора биостроительных блоков поставлять свободную энергию, тем самым обеспечивая все нуждающиеся в этом клеточные биопроизводства и двух клеточных потребителей энергии фосфатных связей АТФ.

I класс биопроизводств, используя в качестве исходных веществ биостроительные блоки, удовлетворяет спрос абстрактного потребителя биомолекул. При этом биопроизводства рассматриваемого класса, синтезирующие белки, принадлежащие множеству потребления абстрактного потребителя биомолекул, используют также генетическую информацию.

Тем самым, очевидно, завершается доказательство достаточности пяти классов биопроизводств для удовлетворения биопотребителей. Необходимость же утверждения непосредственно следует из приведенной выше логики построения функциональной схемы клетки и установления центральной роли биостроительных блоков в клеточном метаболизме. Действительно, если при наличии экзогенных веществ и генетической информации биопотребители удовлетворены, то необходимо присутствуют в клетке I, II, III, IV классы биопроизводств. Необходимость же проникновения экзогенных веществ в клетку, вызванная их затратами в биопроизводствах первых четырех классов, приводит к необходимости присутствия V класса биопроизводств, создающего основу для беспрепятственного проникновения веществ в клетку. Необходимо отметить, что помимо перевода дисфункциональных и токсичных соединений в форму удобную для выведения, V класс биопроизводств выполняет еще одну важную функцию. Эта функция вытекает из обеспечения возможности бесперебойного функционирования клетки в условиях определенного колебания поступления пищевых макромолекул — источников биостроительных блоков. Для этого в клетке необходимо наличие некоторого запаса биостроительных блоков. Образование этого запаса обеспечивается переводом избытка биостроительных блоков в форму удобную для накопления, осуществляемым V классом биопроизводств.

Доказанное утверждение позволяет заключить, что разбиение клеточного метаболизма на вышеуказанные классы биопроизводств с целью показать, каким образом клеточный метаболизм удовлетворяет биопотребителей, является достаточно корректным и удобным. Кроме того, доказанное утверждение позволяет сделать вывод о полноте указанных классов биопроизводств.

Действительно, так как пять классов биопроизводств необходимы и достаточны для выполнения целевого назначения клетки при наличии определенных экзогенных веществ, то, следовательно, они охватывают всевозможные биопроизводства, имеющиеся в клетке. Учитывая,

что метаболические пути представлены в виде совокупности биопроизводств, можно утверждать, что все, не только известные, но также и неизвестные представимы в виде биопроизводств указанных пяти классов.

Любое функционирование клетки, исходя из работы [5], объясняется наличием в клетке трех процессов, что и вызвало необходимость введения трех соответствующих биопотребителей. Это, естественно, не исключает возможности установления в дальнейшем факта существования каких-то других процессов, которые гораздо полноценнее объяснят функционирование клетки. Однако, если эти процессы для своего осуществления не потребуют ничего, кроме свободной энергии и определенных биологических соединений, то их спрос на биомолекулы можно присовокупить к спросу абстрактного потребителя биомолекул, а спрос на свободную энергию — к спросу двух других потребителей энергии в форме фосфатных связей АТФ. Другими словами, предлагаемая функциональная схема клетки инвариантна по отношению к дальнейшим коррективам, которые могут быть внесены в наши познания о клетке, если только для функционирования клетки не требуется ничего, кроме вещества и энергии. Что же касается информации, то она в клетке должна быть опосредствована через некоторый носитель, который представляет собой определенное химическое соединение. Поэтому ее обеспечение, очевидно, учитывается в споре абстрактного потребителя биомолекул.

Все приведенные выше рассуждения касались самостоятельно существующей гетеротрофной клетки. Что же касается существования и функционирования подобных клеток не в среде, а в некотором организме, то в зависимости от специфической природы клетки в ней могут отсутствовать многие биопроизводства. Однако это обстоятельство несколько не противоречит вышесказанному утверждению о необходимости пяти классов биопроизводств, так как если в гетеротрофной клетке организменного подчинения отсутствуют биопроизводства какого-то вида, это вовсе не означает, что в продуктах этого биопроизводства клетка не нуждается. Просто в условиях существования в данном организме продукты недостающих биопроизводств могут быть получены клеткой в готовом виде из других клеток организма, обладающих соответствующей специализацией.

В зависимости же от специфики клетки меняется ее функция и соответствующий спрос биопотребителей. Следовательно, в клетке присутствуют биопроизводства, необходимые для удовлетворения данного спроса.

Ограниченный объем статьи не дал, к сожалению, возможности показать, что построенная модель гетеротрофной клетки согласуется со всеми известными принципами регуляции, имеющими место в клетке.

ЛИТЕРАТУРА

1. Бабунашвили М. К., Зильберфарб Б. С. Изв. АН ГССР, сер. биол., 3, 3, 197—204, 1977.
2. Бабунашвили М. К., Зильберфарб Б. С. Изв. АН ГССР, сер. биол., 2, 3, 198—203, 1976.
3. Бабунашвили М. К., Зильберфарб Б. С. Изв. АН ГССР, сер. биол., 3, 1, 5—10, 1977.
4. Грин Д., Гольдбергер Р. Молекулярные аспекты жизни, «Мир», М., 1968.
5. Ленинджер А. Биохимия, «Мир», М., 1974, 311—720.



მ. ბაბუნაშვილი, ბ. ზილბერფარბი

საქართველოს სსრ განმრთელობის დაცვის სამინისტროს ექსპერიმენტული და კლინიკური ქირურგიის სამეცნიერო-კვლევითი ინსტიტუტი, თბილისი

რ ე ზ ი უ მ ე

აგებულია უჯრედის ფუნქციური სქემა და ნაჩვენებია ბიოსამშენებლო ბლოკების ცენტრალური როლი უჯრედის მეტაბოლიზმში. დამტკიცებულია თეორემა, რომლის თანახმად, სტრუქტურული მთლიანობისა და ადეკვატური მოქმედების უნარის შესანარჩუნებლად, აუცილებელი და საკმარისია განხილულ ბიოწარმოებათა ზუთი ურთიერთდაკავშირებული კლასის არსებობა. თეორემა სამართლიანია გენეტიკური ინფორმაციისა და უჯრედგარე გარემოში გარკვეული ეგზოგენური ნივთიერებების არსებობის პირობებში. ამით მტკიცდება ავტორების მიერ შემოთავაზებული ფაქტიური სქემის ადეკვატურობა.

BIOLOGICAL BASIS OF HETEROTROPHIC CELL MODEL

M. K. BABUNASHVILI, B. S. ZILBERFARB

Institute of Experimental and Clinical Surgery, Tbilisi, USSR

S u m m a r y

The central role of bioproductive blocks in cell metabolism was demonstrated and the functional scheme of the cell was plotted.

The intercommunicative bioproductive for-one-special-purpose classes are proved to be necessary and sufficient to provide the structural integrity and adequate behavior of heterotrophic cells due to the occurrence of genetic information and certain exogenic substances in the extracellular environment. This stands to prove for the adequacy of the suggested functional scheme-basis for a mathematical modelling of heterotrophic cell.

УДК 576.8

КРАТКИЕ СООБЩЕНИЯ

ВЛИЯНИЕ НЕКОТОРЫХ ВИДОВ МИКОБАКТЕРИЙ НА РОСТ И РАЗВИТИЕ ЧЕРЕНКОВ ВИНОГРАДНОЙ ЛОЗЫ

Г. И. Мосиашвили, Н. В. Шенгелия

НИИ садоводства, виноградарства и виноделия МСХ ГССР, Тбилиси

Известно, что среди почвенных микроорганизмов имеется много видов микробов-активаторов, которые являются продуцентами физиологически активных веществ. Последние положительно влияют на растения, способствуя прежде всего росту и развитию их корневой системы и надземных органов, увеличивают урожай и т. д. Физиологически активные вещества являются продуктами обмена почвенных микроорганизмов, выделяются ими в окружающую среду. Следовательно, изучение взаимоотношений между микрофлорой почвы и высшими растениями имеют большое практическое значение [1, 2, 5, 6, 7].

По исследованиям ряда авторов [3, 4, 6] такие виды микобактерий, как *Myc. salivarium*, *Myc. flavum*, *Myc. album*, стимулируют рост и развитие ряда растений.

Нами было установлено широкое распространение микобактерий в почвах, ризосфере и на корнях виноградной лозы, возделываемой на различных почвах ГССР [8]. Многие из них фиксируют атмосферный азот, синтезируют витамины группы «В», ростовые вещества. В связи с этим несомненный интерес представляло изучение влияния различных видов микобактерий на рост и развитие черенков виноградной лозы. С этой целью был поставлен лабораторный опыт с использованием метода погружения черенков виноградной лозы нижними концами в суспензии микобактерий (при разведении 1:5, 1:20, 1:50, 1:100). Черенки отбирали приблизительно одинакового веса и длины. Нарезку производили непосредственно перед обработкой. Повторность опыта двукратная. Полученные данные обрабатывали математически, методом вариационной статистики. Испытуемые культуры микобактерий выращивали на среде Бушнелла и Гааса, в колбах Ерленмейера на качалках (120 об/мин), при температуре 26—28°C в течение 10 дней. Было отобрано 22 штамма, принадлежавших к 17 видам микобактерий. В продолжении всего опыта (20 дней) проводили фенологические наблюдения. Определяли вес зеленой массы и корней виноградной лозы. Контролем служили черенки, обработанные водопроводной водой.

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЙ

Влияние испытанных штаммов микобактерий на укоренение черенков виноградной лозы было различным. Так например: *Myc. bre-*



vicale (штамм 28/38), *Myc. cit. vulgaris* стимулировали образование корней и проростков, а *Myc. hyalinum* не стимулировал образование корней. Ингибирование же побегов испытываемых штаммов наблюдалось реже.

Надо отметить, что заранее было испытано влияние различных разведений суспензии микобактерий на черенки виноградной лозы. Выяснилось, что разведение в 1:5 во всех случаях вызывало угнетение развития черенков в целом. Поэтому в дальнейшем мы не пользовались им. Разведение суспензии микобактерий в 1:20 в большинстве случаев не вызывало стимуляцию образования корней. Данное разведение только в случае *Myc. fimi* (штамм 28/37) не стимулировало образование побегов.

Надо отметить, что все испытанные штаммы микобактерий в большинстве случаев действовали положительно на образование побегов виноградной лозы, тогда как суспензии микобактерий оказывают на образование и дальнейшее развитие корней черенков различное действие и зависит оно от вида, штамма и разведения суспензии данного организма. Так например: суспензия *Myc. tumescens* в разведении 1:20 и 1:50 не стимулирует образование корней, а в разведении 1:100 увеличивает вес корней на 8%. Такое же явление отмечается и в случае *Myc. nigrum* (разведение 1:20, 1:50), *Myc. globiforme* (1:50, 1:100) и др.

Штаммовое различие в некоторых случаях было ярко выражено. Например, суспензия *Myc. rubrum* — штамм 10/48 в разведении 1:20 действовала ингибирующе на черенки в целом, между тем суспензия штамма 25/36 в этом же разведении увеличивала вес корней на 42%, а вес зеленой массы — на 20%. Не стимулирует образование корней *Myc. brevicale* — штамм 16/93 в разведении 1:50, тогда как суспензия второго штамма — 28/38, в этом же разведении увеличивает вес корней на 33% по сравнению с контролем.

Не стимулируют процесс образования корней суспензия *Myc. fimi* — штамм 17/63 и 28/37 в разведении 1:20, *Myc. globiforme* — штамм 6/3 и 29/44 в разведении 1:20 и 1:50.

Заслуживает внимания также и органотропное действие некоторых видов микобактерий по отношению к черенкам виноградной лозы. Например: под влиянием суспензии *Myc. tumescens* вес зеленой массы в разведении 1:20 и 1:50 уже увеличивается в среднем на 4,90 и 11,86% по сравнению с контролем, тогда как на рост корней, как и было отмечено выше, она действует отрицательно. Такое противоположное действие суспензий на рост корней и побегов виноградной лозы можно отметить и в других случаях (*Myc. album*).

Своими положительными действиями особенно выделяются *Myc. rubrum* — штамм 25/36 и *Myc. flavum* в разведении 1:20, вызывающие увеличение веса корней по сравнению с контролем на 53,3 и 24,38% и увеличение зеленой массы соответственно на 11,22 и 27,06%.

Суспензии *Myc. luteum*, *Myc. mucosum*, *Myc. lacticolum* в разведениях 1:50 вызывают увеличение веса корней и зеленой массы соответственно на 31,60 и 20,95%, 28,22 и 38,85%, 42,44 и 24,79%.



Суспензии *Myc. phlei*, *Myc. filiforme*, *Myc. oligonitrophilum* (29/44) в разведении 1:100 увеличивали вес корней и зеленой массы соответственно на 36,79 и 57,32%, 29,12 и 12,50%, 16,03 и 18,96% по сравнению с контролем.

Из 8 вышеперечисленных культур микобактерий 6 выделены из корней и ризосферы виноградной лозы и только две — *Myc. oligonitrophilum*, *Myc. phlei* — из почвы без корней. Это подтверждает литературные данные о том, что микробы-активаторы в большом количестве по сравнению с почвой встречаются в ризосфере растений.

Таким образом, результаты наших опытов показали, что при действии суспензии некоторых видов микобактерий-стимуляторов на рост и развитие черенков виноградной лозы наблюдается увеличение массы надземных частей и корней черенков. Этим подчеркивается положительное влияние продуктов метаболизма микобактерий на рост и развитие черенков виноградной лозы. Можно предположить, что в естественных условиях представители рода *Mycobacterium* могут стимулировать развитие растения в целом. Из изученных видов микобактерий стимулирующими свойствами особенно отличаются: *Myc. rubrum*, *Myc. flavum*, *Myc. luteum*, *Myc. mucosum*, *Myc. lacticolum*, *Myc. phlei*, *Myc. filiforme*, *Myc. oligonitrophilum*.

ЛИТЕРАТУРА

1. Возняковская Ю. М. Труды Института микробиологии АН СССР, XI, М., 1961, 50—53.
2. Возняковская Ю. М., Чинова Т. А. Доклады ВАСХНИЛ, II, 13—15, 1968.
3. Иванов В. П., Якобсон Т. Я., Смирнова В. И. Физиология растений, 14, 4, 683—692, 1967.
4. Карапетян О. А. Ризосферная микрофлора виноградной лозы, возделываемой в новосвоаемых полупустынных почвах «Кирах» Армянской ССР, Автореф. канд. дисс., Ереван, 1967.
5. Клевенская И. А. В сб.: Образование физиологически активных веществ микроорганизмами, «Наука», Новосибирск, 1975, 88—93.
6. Клинциаре А. А., Мишке И. В. В сб.: Химические регуляторы роста и развития растений, «Зинатне», Рига, 1968, 103—111.
7. Павловича Д. Я. В сб.: Микроорганизмы — стимуляторы роста растений, «Зинатне», Рига, 1974, 117—122.
8. Шенгелия Н. В. Доклады научной конференции микробиологов-вирусологов, Тбилиси, 1975, 53—54.

მიკობაქტერიის გვარის ზოგიერთი წარმომადგენლის კომპლექსური მანიპულირების ზრდა-ბანვეითარებაზე

გ. მოსიაშვილი, ბ. ზინგალია

საქართველოს მეზღვების, მევენახეობისა და მეღვინეობის სამეცნიერო-კვლევითი ინსტიტუტი, თბილისი

რ ე ზ ი უ მ ე

ვაზის რქების ზრდა-განვითარებაზე მიკობაქტერიის გვარის ზოგიერთი წარმომადგენლის სუსპენზიის მოქმედების შესწავლის შედეგად გამოიკვია.



რომ საცდელი კულტურების უმრავლესობა ხელს უწყობს ვაზის ზრდასა და მწვანე ნაწილების განვითარებას. ამ მხრივ მასტიმულირებელი მოქმედებით განსაკუთრებით გამოირჩევიან *Myc. rubrum*, *Myc. flavum*, *Myc. luteum*, *Myc. mucosum*, *Myc. lacticolum*, *Myc. phlei*, *Myc. filiforme*, *Myc. oligonitrophilum*.

THE INFLUENCE OF CERTAIN MYCOBACTERIA SPECIES ON THE GROWTH OF GRAPE-VINE

G. I. MOSIASHVILI, N. V. SHENGELIA

Institute of Horticulture, Viticulture and Wine Production, Tbilisi

S u m m a r y

The effect of metabolism products of certain mycobacteria species on the growth of grape-vine cuttings was studied. It became evident that the most part of experimental cultures stimulate the growth of the cuttings. The most effective are: *Myc. rubrum*, *Myc. flavum*, *Myc. luteum*, *Myc. mucosum*, *Myc. lacticolum*, *Myc. phlei*, *Myc. filiforme*, *Myc. oligonitrophilum*.

ВСЕСОЮЗНОЕ СОВЕЩАНИЕ «МЕТОДЫ ПОЧВЕННО-БИОГЕОЦЕНОТИЧЕСКИХ ИССЛЕДОВАНИЙ»

(Тбилиси, 25—27 мая 1978 г.)

Совещание было проведено Почвенной секцией Совета по проблемам биогеоценологии и охраны природы АН СССР, Грузинским филиалом Всесоюзного общества почвоведов и лабораториями биогеоценологии и лесного почвоведения Тбилисского института леса Министерства лесного хозяйства Грузинской ССР. В работе совещания принимали участие видные советские ученые в области биогеоценологии.

В докладе руководителя Почвенной секции Совета по проблемам биогеоценологии и охраны природы АН СССР Л. О. Карпачевского (Москва) было обобщено современное состояние методов почвенно-биогеоценологических исследований. Исходным в его докладе было положение о том, что изучению почв как компонентов лесных биогеоценозов не уделяется должного внимания и использование общепринятых методов почвенных исследований при изучении «почвенного блока» биогеоценозов не дает должного эффекта.

Вопросам использования математических методов в почвенно-биогеоценологических исследованиях и, в частности, применению случайных функций был посвящен доклад Е. А. Дмитриева (Москва).

О результатах биогеоценологических исследований в лесных экосистемах Сибири и полученных моделях природных лесных экосистем рассказала в своем докладе Н. И. Базилевич (Москва).

Доклад З. Прусинкевича (Торунь, Польша) был посвящен вопросам унифицирования методов исследования, в частности при изучении динамики питательных элементов в лесных биогеоценозах.

В докладе В. М. Корсунова, Э. Ф. Ведрова (Красноярск) было рассмотрено моделирование почвообразования в лесных ландшафтах Алтая—Саян.

Методике проведения почвенно-биогеоценологических исследований стационаром МГУ на Валдае был посвящен доклад Л. А. Гришиной и Л. О. Короткова (Москва).

В докладе Е. М. Самойловой (Москва) о методах построения баланса химических элементов был обобщен многолетний опыт стационарных исследований в биогеоценозах лесостепи.

Влиянию лесной подстилки на горно-лесные почвы и методам ее изучения посвятил свой доклад Н. Г. Тарасашвили (Тбилиси).

Т. Ф. Урушадзе и Н. Л. Беручашвили (Тбилиси) в своем докладе рассмотрели особенности изучения почв как компонентов горно-лесных биогеоценозов и выдвинули идею о новых подходах при изучении «почвенного блока» биогеоценозов — разделении почвенной толщи на две части (активную и пассивную) с изменением этой границы в течение года, необходимости изучения стексовых состояний почв и прочих, которые позволят получать данные сопоставимые с таковыми других «блоков» биогеоценозов.



Участники совещания ознакомились с работой биогеоценологического Тбилисского института леса в с. Цодорети, а также с Марткопским физико-географическим стационаром Тбилисского государственного университета.

Для участников совещания была организована полевая экскурсия по маршруту Тетри-Цкаро — Карсаи — Гори — Рикотский перевал — Боржоми — Ахалдаба с показом основных горно-лесных биогеоценозов и почв, формирующихся в них. Был издан путеводитель, в котором нашли широкое отражение почвенно-биогеоценологические исследования грузинских ученых.

На заключительном заседании в Ахалдаба (лесная опытная станция) было принято постановление о необходимости расширения почвенно-биогеоценологических исследований в целом по стране, и в особенности, в Грузии.

Т. Ф. Урушадзе

НА XII КОНГРЕССЕ ФЕБО

XII конгресс Федерации европейских биохимических обществ (ФЕБО) состоялся 2—8 июля 1978 года в Дрездене (ГДР). Конгресс был организован Биохимическим обществом ГДР (председатель оргкомитета — проф. С. Раппопорт). Всего участниками конгресса было зарегистрировано около 3700 человек. Советская делегация состояла из 164 участников. АН СССР представляли: акад. АН СССР, проф. П. А. Коменгани, к. б. и. Г. Н. Квесиладзе, к. б. и. Т. А. Джапашвили и Т. Г. Герцивили.

Работа конгресса была насыщена докладами, которые распределились на 2 пленарных заседаниях (3 доклада), 30 симпозиальных сессиях (146 докладов), 82 заседаниях коллоквиумов (32 доклада). Кроме того, в виде стендовых сообщений на конгрессе было представлено 1753 доклада. Доклады, тематика большинства которых касалась вопросов молекулярной биологии, были объединены по разным проблемам современной биохимии.

Самой многочисленной была тематика стендовых сообщений: здесь были выставлены доклады по 79 направлениям и проблемам биохимии.

Помимо симпозиумов, коллоквиумов и стендовых сессий на XII конгрессе ФЕБО проводились дискуссии за круглым столом, которые были посвящены наиболее актуальным и в то же время спорным вопросам биохимии и молекулярной биологии.

Материалы конгресса были опубликованы в виде 2 томов тезисов докладов; кроме того, за период работы конгресса было издано 7 бюллетеней, освещающих события этого форума.

Работе XII конгресса ФЕБО была приурочена большая выставка приборов, аппаратуры, реактивов, научных книг и журналов. На этой выставке основные фирмы и организации мира демонстрировали новинки продукции на нужды биохимии и молекулярной биологии.

С наиболее интересным докладом «Компартментализация и коммуникация в живой системе» выступил П. Митчелл (Англия), обобщивший современные представления о роли субклеточных структур в жизнедеятельности клетки и механизмах взаимодействия их работы. Большое внимание в докладе было уделено вопросам межклеточных коммуникаций и значению мембранных процессов в их реализации. Повышенный интерес к этому докладу был вызван не только актуальностью и фундаментальностью темы, но и научным авторитетом П. Митчелла — основоположника нового на-

ученого направления — мембранологии (перед началом доклада П. Митчеллу вручена золотая медаль и премия ФЕБО им. Г. Кребса).

Значительное внимание привлекли также доклады, зачитанные на заключительном пленарном заседании конгресса. В Первом из них, сделанном Ж.-П. Шатже (Франция), были представлены данные о структуре белковой молекулы, строении активного центра рецепторного белка, характере связывания с ним ацетилхолина и последующих конформационных изменений. Доклад акад. Ю. А. Овчинникова был посвящен физико-химическим механизмам ионного транспорта. Была наглядно продемонстрирована важная роль ионофоров в явлениях активного транспорта. Особое внимание докладчик уделил вопросам изучения механизмов иммобилизации ионов.

Повышенный резонанс вызвали доклады П. Григарда (США) о роли фосфорилирования мембранных белков в процессах нейротрансмиссии, серия докладов на симпозиуме «Структура и функции ферментов» (докладчик — М. Перуц (Англия), Н. Тианини (Италия), М. Карпейский (СССР) и др.), а также отдельные сообщения коллоквиума по актуальным проблемам генной инженерии (докладчики — А. А. Баев — СССР, К. Мюррей — Англия, С. Розенталь — ГДР).

Т. А. Джалишвили

Т. Г. Гаришвили

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

Сдано в набор 24.10.1978; Подписано к печати 19.2.1979; Формат бумаги
70×108¹/₁₆; Бумага № 1; Печатных л. 8,40; Уч.-издат. л. 7,17;
УЭ 08451; Тираж 1100; Заказ 39;
Цена 70 коп.

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

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

К СВЕДЕНИЮ АВТОРОВ

1. В журнале печатаются не опубликованные в других изданиях, завершённые оригинальные работы экспериментального и теоретического характера по утверждённому редколлегией разделам биологии, обзорные статьи, написанные по заказу редколлегии, а также краткие сообщения и рецензии. Периодически в журнале помещается краткая хроника о проведённых 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 грузинском и английском языках (не более 6 строк) — до **4 страниц** машинописи. Краткие сообщения можно иллюстрировать 1—2 рисунками.

Резюме на грузинском и английском 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. На первой странице слева приводятся индексы статьи по таблицам Универсальной десятичной классификации (УДК), 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, инициалы и фамилии авторов, заглавие, название журнала. В конце реферата следует указать библиографические сведения, город и научное учреждение, в котором выполнена работа. Реферат должен быть подписан автором.

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

7. Фамилии цитируемых авторов следует давать в транскрипции, соответствующей тексту статьи и в оригинальсий — 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 спечатов. Выправленные корректуры возвращаются в редакцию в трёхдневный срок. При задержке корректур редакция публикует статьи по первоначальным текстам.

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

12. Авторы получают бесплатно 12 отдельных оттисков.

Утверждено Президиумом Академии наук ГССР 14.II.1974

6 76 / 31


ՀԱՅԿԱՅԵԱՆ
ՆԱԽԱՐԱՐՈՒՄԵՆ
76 204

Цена 70 коп.