

784-8 /  
1981 / 2



ISSN—0321—1665

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

**ბიოლოგიის**  
**სერია**  
**СЕРИЯ**  
**БИОЛОГИЧЕСКАЯ**

1981 N 5

თბილისი  
ТБИЛИСИ  
TBILISI

ტომი  
ТОМ  
VOL.

**7**

**BIOLOGICAL SERIES**

СПИСОК РАЗДЕЛОВ БИОЛОГИИ,  
ПО КОТОРЫМ ПРИНИМАЮТСЯ СТАТЬИ

Теоретическая биология  
Физиология человека и животных  
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

ბ ი ო ლ ო გ ი ი ს ს ე რ ი ა  
СЕРИЯ БИОЛОГИЧЕСКАЯ

ტომი 7, № 5  
Том

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

სარედაქციო კოლეგია:

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

ლ. გაბუნია, ს. დურმიშიძე, მ. ზაალიშვილი, გ. თუმანიშვილი, ი. თუმაჯანოვი,  
გ. კანდელაკი, ნ. კეცხოველი, კ. ნადარეიშვილი, პ. ქომეთიანი, ბ. ყურაშვილი,  
ნ. ძიძიშვილი, თ. ჭანიშვილი, შ. ჭანიშვილი, ნ. ჯავახიშვილი  
პასუხისმგებელი მდივანი ს. ლაბაძე

**РЕДАКЦИОННАЯ КОЛЛЕГИЯ:**

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

Л. К. Габуния, Н. А. Джавахишвили, Н. Н. Дзидзишвили, С. В. Дурмишидзе,  
М. М. Заалишвили, Г. В. Канделаки, Н. Н. Кецохели, 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

© Известия АН ГССР  
Серия биологическая, 1981

СОДЕРЖАНИЕ—შინაარსი—CONTENTS

Г. Р. Геташвили, М. М. Заалишвили. Влияние ионов двухвалентных металлов на структуру и функции ДНК . . . . .	389
გ. გეტაშვილი, მ. ზაალიშვილი. ორვალენტური მეტალების იონთა გავლენა დნმ-ის სტრუქტურასა და ფუნქციაზე	
G. R. Getashvili, M. M. Zaalishvili. Influence of divalent metal ions on structure and function of DNA	
А. А. Унгиадзе, Д. Ш. Давитулиани. Электрофизиологическое исследование взаимодействия гипоталамуса и гиппокампа кошки . . . . .	404
ა. უნგიადე, დ. დავითულიანი. კატის ჰიპოთალამუსს და ჰიპოკამპის ურთიერთმომქმედების ელექტროფიზიოლოგიური შესწავლა	
A. A. Ungiadze, D. Sh. Davituliани. Electrophysiological study of the relationship between the hypothalamus and hippocampus of the cat	
В. С. Абашидзе. К устройству спинальных нервов рыб . . . . .	413
ვ. აბაშიძე. თევზის სპინალური ნერვების აგებულება	
V. S. Abashidze. On the structure of spinal nerves of fish	
Л. И. Жгенти. К вопросу о функциях синергид (данные электронной микроскопии) . . . . .	419
ლ. ჯღენტი. საკითხი სინერგიდების ფუნქციების შესახებ (ულტრასტრუქტურული მონაცემები)	
L. Zhgenti. On the function of synergids (the ultrastructural data)	
М. З. Джапаридзе, Т. Я. Джарияшвили, Л. Г. Цакадзе, З. П. Кометиани. Эффект дофамина на $\text{Na}^+$ , $\text{K}^+$ -АТФазную систему головного мозга крыс . . . . .	425
მ. ჯაფარიძე, თ. ჯარიაშვილი, ლ. წაქაძე, ზ. ქომეთიანი. დოფამინის ეფექტი ვირთაგვის თავის ტვინის $\text{Na}^+$ , $\text{K}^+$ -ატფაზურ სისტემაზე	
M. Z. Japaridze, T. I. Jariashvili, L. G. Tsakadze, Z. P. Kometiani. The effect of dopamine on the rat brain $\text{Na}^+$ , $\text{K}^+$ -ATPase system	
М. Д. Павленишвили, Л. Л. Квачадзе. Применение методов математического планирования эксперимента для оптимизации среды с целью повышения уровня биосинтеза кислотостабильной $\alpha$ -амилазы . . . . .	431
მ. დავლენიშვილი, ლ. კვაჩაძე. მკვლევარული მეთოდების გამოყენებით ამაღლების მიზნით საკვები არის ოპტიმიზაცია ექსპერიმენტის დაგეგმვის მათემატიკური მეთოდების გამოყენებით	
M. D. Pavlenishvili, L. L. Kvachadze. Application of mathematical methods of experimental planning for the optimization of medium in order to raise the level of biosynthesis of acid-stable $\alpha$ -amylase of <i>Aspergillus niger</i> 147-A	
Р. Д. Поландова, В. В. Коридзе, Л. И. Гусева, Н. Н. Масликова, С. Б. Вартанова, Г. И. Квеситадзе. Ферментный препарат кислотостабильных $\alpha$ - и глюкоамилаз—амилонигрин Г10Х и его использование в хлебопечении . . . . .	436
რ. პოლანდოვა, ვ. კორიძე, ლ. გუსევა, ნ. მასლიკოვა, ს. ვართანოვა, გ. კვესიტაძე. მკვლევარული მეთოდების გამოყენებით ამაღლების მიზნით საკვები არის ოპტიმიზაცია ექსპერიმენტის დაგეგმვის მათემატიკური მეთოდების გამოყენებით	
R. D. Polandova, V. V. Koridze, L. I. Guseva, N. N. Maslikova, S. B. Vartanova, G. I. Kvesitadze. Acid-stable $\alpha$ - and glucoamy-	

lase enzymes preparation amylonigrin G10X and its application in bread industry

М. П. Мгалоблишвили, А. И. Литвинов, Г. А. Санадзе. Фотосинтетическая активность мезофильных протопластов тополя *Populus deltoides* March . . . . . 442

მ. მგალობლიშვილი, ა. ლიტვინოვი, გ. სანაძე, ვერხვის (*Populus deltoides* Marsh.) მეზოფილის პროტოპლასტების ფოტოსინთეზური აქტიურობა

М. P. Mgaloblishvili, A. I. Litvinov, G. A. Sanadze. Photosynthetic activity of poplar (*Populus deltoides* Marsh.) mesophyll protoplasts

В. Е. Курашвили, Л. К. Венхвадзе, М. Ш. Кобахидзе, З. В. Орджоникидзе. Изучение основных биологических свойств условно-патогенных энтеробактерий родов *Enterobacter*, *Hafnia*, *Citrobacter*, *Providencia*, выделенных при кишечных и других воспалительных заболеваниях . . . . . 451

ვ. ყურაშვილი, ლ. ვენხვაძე, შ. ორჯონიკიძე, მ. კობახიძე, ნაწლავთა და სხვა ლოკალიზაციის ანთებითი პროცესების დროს გამოყოფილი პირობით-პათოგენური ენტერობაქტერიების (*Enterobacter*, *Hafnia*, *Citrobacter*, *Providencia*) ძირითადი ბიოლოგიური თვისებების შესწავლა

V. E. Kurashvili, L. K. Vepkhvadze, Z. V. Orjonikidze, M. Sh. Kobakhidze. Study of basic biological properties of conditionally pathogenic enterobacteria of the genus *Enterobacter*, *Hafnia*, *Citrobacter*, *Providencia* isolated during intestinal and other inflammatory diseases

Г. Г. Думбадзе. Влияние электромагнитных полей (ЭМП) звуковых частот (ЗЧ) на хромосомный набор культивируемых лимфоцитов человека . . . . . 457

გ. დუმბაძე. ბგერითი სიხშირეების ელექტრომაგნიტური ველის გავლენა ადამიანის კულტივირებული ლიმფოციტების ქრომოსომულ აპარატზე

G. G. Dumbadze. Action of electromagnetic field of sound-wave frequency on the chromosomes of the cultivated human lymphocytes

Е. В. Бут. К вопросу о полимеризации актина . . . . . 461

ე. ბუტი. აქტინის პოლიმერიზაციის შესახებ

E. V. But. On the actin polymerization

Н. В. Карсанов, З. Г. Хугашвили, Н. О. Эдишерашвили, Р. В. Узунян. Транспорт ионов  $Ca^{2+}$  в фрагментированном саркоплазматическом ретикулуме и митохондриях, а также активность протеникиназы и аденилатциклазной системы микросом мышцы сердца при 10-дневном токсико-аллергическом миокардите . . . . . 468

ნ. კარსანოვი, ზ. ხუგაშვილი, ნ. ედიშერაშვილი, რ. ვ. უზუნჯანი. კალციუმის იონების ტრანსპორტი გულის კუნთის ფრაგმენტირებულ სარკოპლაზმურ რეტიკულუმსა და მიტოქონდრიებში, აგრეთვე პროტეინკინაზისა და ადენილატციკლაზური სისტემის აქტიურობა მიკროსომებში 10-დღიანი ტოქსიკურ-ალერგიული მიოკარდიტის დროს

N. V. Karsanov, Z. G. Khugashvili, N. O. Edisherashvili, R. V. Uzunjan.  $Ca^{2+}$  ion transport in fragmented sarcoplasmic reticulum and mitochondria and activity of protein kinase and adenylate cyclase system of heart muscle microsomes on the 10th day of toxic-allergic myocarditis

Б. Е. Курашвили. Рецензия на монографию „Колорадский картофельный жук“, „Наука“, М., 1981 . . . . . 478

ბ. ყურაშვილი. რეცენზია მონოგრაფიაზე „კოლორადოს კარტოფილის ხოჭო“, „ნაუკა“, მოსკოვი, 1981.

B. E. Kurashvili. Review of the book „Colorado potato beetles“, „Nauka“, Moscow, 1981

УДК 577.323.2/7

МОЛЕКУЛЯРНАЯ БИОЛОГИЯ

## ВЛИЯНИЕ ИОНОВ ДВУХВАЛЕНТНЫХ МЕТАЛЛОВ НА СТРУКТУРУ И ФУНКЦИИ ДНК

Г. Р. Геташвили, М. М. Заалишвили

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

Поступила в редакцию 02.06.1981

65891

Обобщены имеющиеся на сегодняшний день данные, касающиеся различных аспектов взаимодействия ДНК с двухвалентными катионами. Рассматриваются вопросы участия ионов металлов в генетическом метаболизме ДНК. Обсуждаются данные о природе связывающих центров в нуклеотидах, нуклеотидах, синтетических полинуклеотидах и в нативной ДНК. Особое внимание уделено вопросу о влиянии двухвалентных катионов на термостабильность ДНК. Рассмотрены механизмы ренатурации ДНК в присутствии ионов меди и цинка.

Взаимодействие ионов металлов с нуклеиновыми кислотами, несомненно, является одним из узловых вопросов сравнительно молодой науки, получившей название бионеорганической химии, представляющей, по сути дела, приложение принципов координационной химии металлов к биологическим проблемам. Помимо определенного интереса к физико-химическим проблемам связывания ионов металлов с ДНК и РНК, интенсивные исследования взаимодействия между ионами двухвалентных металлов и нуклеиновыми кислотами мотивированы, в основном, тем обстоятельством, что существует длинный ряд экспериментальных фактов, касающихся важной роли этих катионов в самых разнообразных функциях нуклеиновых кислот. Во-первых, двухвалентные катионы обнаруживаются в ДНК и РНК, экстрагированных из клетки, будучи прочно с ними связанными [1, 2, 106, 107]. Двухвалентные катионы стабилизируют морфологию метафазных хромосом [18], эффективно влияют на деконденсацию хромосомных нитей [62], проявляют мутагенные эффекты, связанные с модификацией молекул ДНК [26, 64, 85, 109], а также играют важную роль в механизмах канцерогенеза [20, 80]. Наконец, ионы двухвалентных металлов играют ключевую роль во всех ферментативных реакциях с участием нуклеиновых кислот [15, 43, 65, 70, 74, 78, 89, 100]. При этом имеются основания коррелировать изменение энзиматической активности в процессах генетического метаболизма с конформационными изменениями нуклеиновых кислот под влиянием металл-ионов. По-видимому, именно это обстоятельство обусловило большое количество исследований, посвященных взаимодействию двухвалентных катионов с ДНК. Этим работам посвящен ряд обзоров [13, 25, 29, 31, 68], однако в большинстве из них основное внимание уделено какому-то одному аспекту взаимодействия катионов с ДНК. Именно поэтому мы попытались обобщить

имеющиеся на сегодняшний день данные, касающиеся различных просов взаимодействия двухвалентных катионов с ДНК и ее компонентами.

## 1. Ионы металлов и генетический метаболизм нуклеиновых кислот

Хорошо известно, что генетический аппарат клетки должен выполнять две различные функции: он должен быть способен, во-первых, к самовоспроизведению и, во-вторых, к иницированию процессов, которые в конечном счете находят свое выражение в данной клеточной структуре или функции. Следовательно, ДНК, представляющая основу генетического материала клетки, должна быть способна к репликации и к транскрипции, причем каждый из этих фундаментальных процессов управляется и контролируется ионами двухвалентных металлов. Так, для синтеза новых молекул ДНК, идентичных исходным, необходимы фермент ДНК-полимераза, АТФ, ЦТФ, ГТФ, ТТФ, а также ионы  $Mg^{2+}$  или  $Mn^{2+}$  [83], а в отдельных случаях  $Zn^{2+}$  [43] или  $Ca^{2+}$  [70]. Существуют очень интересные аспекты участия металлов в процессе репликации. Наиболее любопытно, что в реакции полимеризации ионы  $Mn^{2+}$  могут заменять ионы  $Mg^{2+}$ , но при этом селективность реакции изменяется. ДНК, образованная в присутствии ионов  $Mn^{2+}$ , содержит как дезоксирибонуклеотиды, так и рибонуклеотиды, которых содержать не должна [14]. Точный механизм подобной селекции в настоящее время не установлен. Считается, что функция ионов  $Mg^{2+}$  заключается в присоединении дезоксинуклеотидтрифосфата к ферменту [36], в то время как ионы  $Mn^{2+}$  связывают скорее всего ДНК с ферментом [94]. В другой системе, полимеризующей дезоксинуклеотиды, системе концевой дезоксинуклеотидилтрансферазы Боллама, участвуют ионы  $Mg^{2+}$ ,  $Mn^{2+}$  и  $Co^{2+}$  [57]. Здесь также наблюдается известная селективность: ионы  $Mg^{2+}$  иницируют, в основном, включение пуриновых нуклеотидов, а ионы  $Co^{2+}$  — пиримидиновых нуклеотидов [21]. И это явление нельзя объяснить на основе современных представлений и понятий биорганической химии.

Следующая стадия считывания генетического кода — транскрипция, осуществляется с помощью фермента РНК-полимеразы и нуждается в ионах  $Mg^{2+}$ ,  $Mn^{2+}$  и  $Co^{2+}$ . Как и в случае репликации, наиболее эффективно влияют на ход реакции ионы  $Mg^{2+}$ , причем в этом случае в состав вновь растущей цепи матричной РНК включаются рибонуклеотиды, а не дезоксирибонуклеотиды [98]. Ионы же  $Mn^{2+}$ , как и в процессе репликации, вызывают ошибочное включение нуклеотидов, хотя реакция в присутствии ионов  $Mn^{2+}$  протекает даже более интенсивно [76, 98]. Кроме того, ионы  $Mn^{2+}$  при наличии матричной ДНК приводят к синтезу гомополимеров, содержащих только один нуклеотидтрифосфат [39]. Возможная причина столь странного эффекта ионов  $Mn^{2+}$  может заключаться в изменяющейся координационной способности ионов  $Mn^{2+}$  в противоположность ионам  $Mg^{2+}$ , связываемым только с фосфатами. Реакция транскрипции легко ингибируется ионами большинства тяжелых металлов [7]. Необходимо отметить, что в системе *E. coli* эффективность ионов  $Mg^{2+}$  в промотировании транскрипции составляет в опытах *in vitro* только 30% по сравнению с эффективностью ионов  $Mn^{2+}$ , но концентрация ионов  $Mg^{2+}$  в клетке, по крайней мере, на порядок выше; следовательно, роль активатора реакции выполняют все таки ионы  $Mg^{2+}$  [7]. Ошибки в размножении генетического кода наблюдаются не только при замене  $Mg^{2+}$  на  $Mn^{2+}$ , но и при изменении концентрации  $Mg^{2+}$  и других катионов. Со и Деви [96], Фридман и Вайнштейн [40], Шер и Очоа [101] под-



робно изучили эффекты такого рода и показали, что ошибки кодирования происходят наиболее редко при низкой концентрации ионов  $Mg^{2+}$ , причем с ростом концентрации металла ошибки нарастают по экспоненциальному закону. В настоящее время установлено, что кроме  $Mg^{2+}$  и  $Mn^{2+}$  в реакции полимеризации т-РНК используются также ионы  $Co^{2+}$  [110], в то время как ионы других металлов не эффективны [44].

Мы видим, таким образом, что присутствие ионов двухвалентных металлов имеет огромное значение для нормального функционирования нуклеиновых кислот. Однако механизмы воздействия ионов металлов на эти процессы еще слишком мало изучены. Предполагается, что эти механизмы во многом связаны со способностью ионов металлов взаимодействовать с электронодонорными центрами молекул ДНК, видоизменяя структуру макромолекул. Однако, перед тем как перейти к рассмотрению влияния двухвалентных катионов на структуру ДНК, необходимо вкратце остановиться на взаимодействии этих катионов с простейшими компонентами ДНК и модельными полинуклеотидами.

## 2. Взаимодействия двухвалентных катионов с основаниями, нуклеозидами, нуклеотидами и полинуклеотидами

Как известно, гетероциклические основания содержат электронодонорные атомы азота и кислорода, являющиеся возможными центрами связывания ионов. В нуклеозидах, кроме того, имеются гидроксильные группы, а нуклеотиды имеют фосфатные группы, также способные к координации. Из всех этих центров наиболее сильной координирующей группой является фосфатная группа [86]. Например, в случае комплексов катионов с аденозином, а также с 5'-АМФ, 5'-АДФ и 5'-АТФ устойчивость повышается с увеличением содержания фосфата [95]. В работах Кона и Хьюджина [24], а также Стернлиха [99] было показано, что  $Mg^{2+}$  и  $Ca^{2+}$  присоединяются только к фосфатам, в то время как  $Mn^{2+}$ ,  $Cu^{2+}$  и  $Zn^{2+}$  присоединяются как к фосфатам, так и к основаниям. Поэтому огромный интерес представляет определение связывающих центров в основаниях. Благодаря методу ЯМР было получено множество данных, идентифицирующих природу этих центров. Работами Бергера и Эйхорна [16], Фритча [41], Котович [58], Дженетт [54], Элленбергера [97], Хаппе [49], Реймарсона [82] и др. были установлены следующие основные факты. Ионы двухвалентной меди могут образовывать связи со многими атомами, однако наиболее вероятные центры связывания—это атом  $N_7$  в цитидине,  $N_7$  и  $N_3$  в 5'-АМФ [41], атом  $N_3$  в 5'-ЦМФ, 5'-УМФ, 5'-ГМФ, в цитидине и уридине [58], атом  $N_9$  в гуанине [19], атомы  $N_3$  и  $N_9$  в аденине [21]. Кроме того, по данным Бергера [16], ион  $Cu^{2+}$  связывается с атомами  $N_7$  и  $N_1$  инозина, причем, с первым преимущественно при низких значениях рН, а со вторым — при высоких. Ту и Фредерик [104] показали, что связывание  $Cu^{2+}$  с гуанозином происходит в  $N_7$ , а результаты исследования системы  $Cu^{2+}$ -ИМФ указывают на присоединение ионов меди к атомам  $N_7$  и  $N_1$  [17]. Для других переходных металлов наблюдаются сходные тенденции к связыванию с центрами оснований. Так было установлено, что ионы  $Mn^{2+}$  слабо связываются с аденозином, в то время как 5'-ГМФ фиксирует  $Mn^{2+}$  главным образом по фосфатной группе и  $N_7$ , а в случае гуанозина лигандами  $Mn^{2+}$  являются  $N_7$  и карбоксильный кислород на  $C_6$  [41]. Геллер [50] показал, что  $Mn^{2+}$  незначительно связывается с АТФ, а Андерсон [11] установил, что  $Mn^{2+}$  присоединяется предпочтительно к гуанину. Исследования образования комплексов ионов  $Co^{2+}$  с АМФ и АТФ показали, что ион  $Co^{2+}$  с нуклеотидами связывается как

по фосфату, так и по азоту  $N_7$  [103]. Наличие нескольких центров связывания было установлено и для ионов  $Zn^{2+}$  [108], в частности, Хонне [53] обнаружил, что ионы  $Zn^{2+}$  сдвигают резонансный сигнал  $^{15}N$  для  $N_7$ ,  $N_9$  и аминогруппы. Согласно данным Дженетт [54] в случае ионов  $Hg^{2+}$  наиболее заметен сдвиг сигнала ЯМР для атомов, принадлежащих гуанозину, и атом  $N_7$  гуанина предполагается основным центром связывания. Все эти факты, наряду с данными кристаллографии [19, 23, 72, 73, 104], дифференциальной УФ-спектроскопии [47], кругового дихроизма [69], рамановской спектроскопии [77] и ионоселективной потенциометрии [69, 75], указывают на то, что атомы  $N_7$  и  $N_3$  — наиболее предпочтительное место присоединения ионов металлов в нуклеотидах и нуклеотидах. Для ионов щелочноземельных металлов эффектов связывания с центрами оснований обнаружено не было, хотя теоретические расчеты Говила и Нанди [46] показывают возможность взаимодействия ионов  $Mg^{2+}$  с  $N_6$  и  $N_7$  аденина.

Хотя существование полимерной структуры может приводить к изменению механизмов связывания, исследования, проведенные методом ЯМР, показывают, что ионы  $Cu^{2+}$  присоединяются к атомам  $N_3$  как в поли-рА, так и в 5'АМФ [17], к атому  $N_7$  — как в поли-рИ, так и в 5'-ИМФ [33]. Эксперименты по плавлению синтетических полинуклеотидов также показывают преимущественное взаимодействие ионов  $Cu^{2+}$  с гуанин-цитозиновыми парами [105]. Более широкое исследование комплексов поли Г, поли Ц, поли У и поли И с двухвалентными катионами показало, что по характеру действия все катионы делятся на две группы [91]: ионы  $Mg^{2+}$  и  $Ca^{2+}$  взаимодействуют только с фосфатами и стабилизируют спиральную структуру полимеров, в то время как ионы переходных металлов взаимодействуют и с основаниями и с фосфатами. Исследования взаимодействия  $Mg^{2+}$  с поли А, поли У, поли (А+У) и поли (А+ГУ) показали, что относительная константа связывания ионов  $Mg^{2+}$  быстро уменьшается с увеличением степени связывания, а также с ростом концентрации  $Na^+$  [59]. Кроме того, добавление  $Mg^{2+}$  к поли У приводит к образованию более упорядоченной структуры [111]. В 1974 г. Кракауер опубликовал данные по связыванию ионов  $Mg^{2+}$  с поли А и поли У и получил выражение для зависимости константы связывания  $K_{Mg}$  от доли занятых фосфатов и концентрации  $Na^+$  [60]. Рассчитанные им величины  $K_{Mg}$  оказались возможным использовать для расчетов связывания ионов  $Mg^{2+}$  с ДНК. В целом данные о связывании двухвалентных катионов с полинуклеотидами сыграли важную роль в изучении проблемы взаимодействия ДНК- $Me^{2+}$ , которая будет рассмотрена в следующих разделах.

### 3. Взаимодействие двухвалентных катионов с нативной ДНК

При рассмотрении структуры ДНК становится ясно, что макромолекулы ДНК содержат несколько типов электронных доноров, к которым могут присоединяться катионы: фосфатные группы и реакционно-способные центры оснований. Очевидно, под реакционно-способными центрами имеются в виду атомы, обладающие высокой электронной плотностью. В соответствии с расчетами, произведенными методом ЛКАО [25, 61], атом  $N_7$  гуанина обладает наибольшей электронной плотностью и является наиболее реакционно-способным центром при взаимодействии с ионами металлов. Кроме того, ясно, что связывание положительно заряженных ионов металлов должно происходить, в первую очередь, на отрицательно заряженных фосфатных группах. Поэтому наиболее вероятным представляется образование хелатных комплексов, в которых роль лигандов играют фосфатная группа и один из ато-



мов основания. Комплексы этого типа должны наблюдаться, в основном, для катионов переходных металлов, таких как  $Mn^{2+}$ ,  $Co^{2+}$ ,  $Ni^{2+}$ ,  $Cu^{+}$ ,  $Zn^{2+}$ ,  $Fe^{2+}$  и других [25]. Методы дифференциальной УФ-спектроскопии (ДУФ), кругового дихроизма (КД) и инфракрасной спектроскопии (ИК) явились весьма действенными при установлении природы этих комплексов. Как и следовало ожидать, все катионы первого переходного ряда обнаруживают тенденцию к взаимодействию с основаниями ДНК, видоизменяя В-форму [34, 114], в то время как щелочноземельные катионы ведут себя отличным образом [114]. В 1969 г. Шрейбер [87] обнаружил, что ДУФ-спектры комплексов ДНК с  $Cu^{2+}$ ,  $Ni^{2+}$ ,  $Fe^{2+}$  и  $Mn^{2+}$  давали заметные максимумы, сдвинутые в сторону длинных волн. Позднее Циммером [114] было показано, что характеристический спектр ДНК в комплексе с переходными катионами обнаруживает максимум при 293 нм и минимум при 248 нм. Появление максимума означает возмущение электронных уровней оснований в результате взаимодействия катионов с электронодонорными центрами. В качестве возможных центров связывания предполагаются гуанин и цитозин [37, 112, 115]. Данные КД-спектров подтверждают преимущественное взаимодействие ионов  $Cu^{2+}$  с ГЦ-парами ДНК [113]. Инфракрасные спектры комплексов ДНК- $Cu^{2+}$  дают картину, аналогичную спектрам гуанина и цитозина в комплексе с  $Cu^{2+}$  [42]. Согласно данным Фостера [38], при низких концентрациях лигандов и низких температурах наблюдается связывание ионов  $Cu^{2+}$  с атомами  $N_7$  пуринов и кислородом фосфатных групп, образование хелатов между  $N_7$  и  $O$  при  $C_6$  гуанина, а также образование специфических межнитетовых комплексов при ГЦ-парах. Что касается связывания ионов  $Cu^{2+}$  с аденином в ДНК, то, несмотря на взаимодействие ионов  $Cu^{2+}$  как с самим аденином [103], так и с его производными [41], подобных эффектов в случае ДНК зарегистрировано не было. В то же время при низких температурах и концентрациях ионы  $Cu^{2+}$  наиболее прочно и специфично связываются с фосфатными группами ДНК [35, 105]. Учитывая все эти факты, легко понять, почему связывание иона  $Cu^{2+}$  между  $N_7$  гуанина и фосфатной группой считается в настоящее время наиболее предпочтительной моделью комплекса ДНК- $Cu^{2+}$ . Все вышесказанное в значительной степени относится и к другим переходным катионам. Так, изменения в ДУФ-спектрах в случае ионов  $Zn^{2+}$  обнаруживают четкую зависимость от ГЦ-состава [114]. Селективность по отношению к гуанину была показана и для комплексов ДНК- $Mn^{2+}$  [66]. Спектры кругового дихроизма также весьма чувствительны к взаимодействию переходных катионов с основаниями нативной ДНК. В случае ГЦ-богатой ДНК положительный максимум спектра КД подавляется всеми переходными катионами, в то время как отрицательный максимум почти не меняется [114, 8]. Щелочноземельные катионы при той же концентрации практически не влияют на спектры КД, хотя ионы  $Mg^{2+}$  при значительно больших концентрациях также подавляют положительный максимум [114]. Степень подавления максимума КД указывает на степень взаимодействия иона с основаниями ДНК и хорошо коррелирует с данными ДУФ-спектров. По возрастающей тенденции к взаимодействию с основаниями можно построить следующий ряд:  $Mg^{2+}$ ,  $Ba^{2+}$  <  $Ca^{2+}$  <  $Co^{2+}$  <  $Mn^{2+}$ ,  $Zn^{2+}$  <  $Cd^{2+}$  <  $Cu^{2+}$  [114]. Если ионы  $Mg^{2+}$  реагируют в основном с фосфатными группами [28, 34, 88, 116], то ионы  $Cd^{2+}$  и  $Cu^{2+}$  реагируют, в основном, с пуринами и пиримидинами, что может сопровождаться разрывом всех водородных связей [105].

Исследование ДУФ-спектров, КД-спектров и данных седиментационного анализа приводит к выводу, что взаимодействие переходных катионов с атомами оснований вызывает конформационные изме-

нения в структуре ДНК. По мнению ряда ученых эти изменения представляют собой не что иное, как модификацию В-формы ДНК в С-подобную структуру, т. е. сопровождаются увеличением угла скручивания между парами оснований с изменением угла склонения оснований к оси двойной спирали [48, 114].

#### 4. Влияние ионов металлов на термостабильность молекул ДНК

Как видно из всего вышесказанного, ионы двухвалентных металлов весьма сильно и специфически взаимодействуют с ДНК, что неизбежно должно приводить к сильному эффекту этих ионов на скручивание и раскручивание двойной спирали. Способность ионов металлов стабилизировать двойную спираль впервые была обнаружена Шеком [90] и объяснена Довом и Дэвидсоном [28], которые заметили, что температура плавления, т. е. температура, при которой ДНК раскручивается на отдельные цепи, линейно повышается с увеличением логарифма ионной силы, причем влияние двухвалентных катионов проявляется при значительно более низких концентрациях, чем одновалентных. Стабилизацию двойной спирали ДНК ионами металлов легко объяснить следующим образом. В двойной спирали отрицательно заряженные фосфатные группы на соседних нуклеотидах отталкиваются. Раскручивание двойной спирали увеличивает расстояние между фосфатными группами и уменьшает отталкивание. Если же заряды фосфатов нейтрализуются катионами, то силы, вызывающие раскручивание, устраняются. Очевидно, что двухвалентные катионы должны быть при этом намного эффективнее, чем одновалентные. Тем не менее, стабилизация молекул ДНК отнюдь не является общей характеристикой двухвалентных катионов. Этот факт иллюстрируется данными «классической» работы Эйхорна [30]. Эйхорн впервые показал, что температурные точки перехода спираль-клубок в ДНК сильно зависят от типа катиона (рис. 1). Ионы  $Mg^{2+}$ ,  $Ca^{2+}$ ,  $Ba^{2+}$  значительно повышают

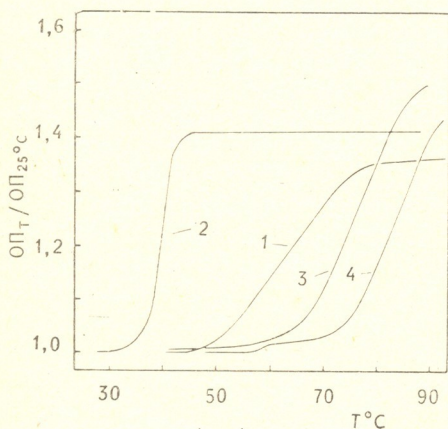


Рис. 1. Изменение оптической плотности растворов комплексов ДНК  $Me^{2+}$  при тепловой денатурации: 1—чистая ДНК; 2—ДНК— $Cu^{2+}$ ; 3—ДНК— $Fe^{2+}$ ; 4—ДНК— $Mg^{2+}$ . Соотношение  $Me^{2+}/ДНК-Ф = 2$  [30]

температуру плавления; сходным образом, хотя и менее эффективно, стабилизировали ДНК в опытах Эйхорна ионы  $Co^{2+}$ ,  $Ni^{2+}$ ,  $Mn^{2+}$  и  $Zn^{2+}$ . Ионы же  $Cu^{2+}$ ,  $Cd^{2+}$  и  $Pb^{2+}$  сильно понижали температуру плавления. Только очень низкие концентрации ионов  $Cu^{2+}$  приводили к незначительному повышению температуры плавления. В дальнейшем Хиан [51] и Венер [105] показали, что при соотношениях 0,5—0,8  $Cu^{2+}/ДНК-Ф$  температура плавления возрастает на 3—4°, что является следствием нейтрализации фосфатных зарядов. Незначительное повышение температуры плавления ДНК низкими концентрациями

ионов меди было продемонстрировано также Кларком [22] и Шеварднадзе [10]. Дестабилизация же ДНК, инициированная более высокими концентрациями ионов  $\text{Cu}^{2+}$ , была выявлена в целом ряде работ [10, 22, 30, 51, 105]. Так, для ДНК из *Streptococcus Chrysomallus* температура плавления при достаточно высокой концентрации ионов меди снижается на 30—45°C [105]. Снижение температуры плавления ДНК ионами  $\text{Cu}^{2+}$  приписывается образованию комплексов между  $\text{Cu}^{2+}$  и основаниями ДНК, ведущему к разрыву водородных связей [30, 105], вероятнее всего в ГЦ-парах (рис. 2) [16, 58, 91]. Доминирующее зна-

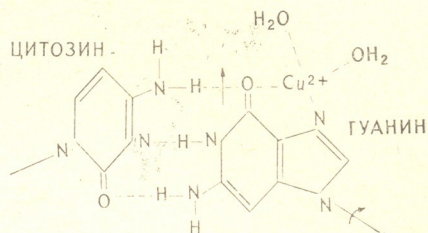
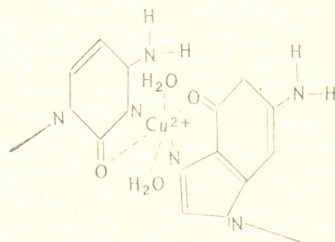


Рис. 2. Предположительная схема взаимодействия иона  $\text{Cu}^{2+}$  с гуанин-цитозиновыми парами ДНК [105]



чение ГЦ-пар в образовании комплексов ДНК- $\text{Cu}^{2+}$  подтверждается влиянием ионов  $\text{Cu}^{2+}$  на температуру плавления ДНК с различным ГЦ-составом. Ионы меди в большей степени дестабилизируют ДНК с повышенным содержанием ГЦ-пар [105], и в то же время в присутствии достаточно большого количества ионов меди любые ДНК плавятся при одной и той же температуре, вне зависимости от ГЦ-состава [96]. Этот эффект, судя по всему, объясняется полным разрушением всех ГЦ-пар при взаимодействии с ионами  $\text{Cu}^{2+}$ . Основываясь на этих данных, а также учитывая результаты собственных экспериментов по кинетике плавления комплексов ДНК- $\text{Cu}^{2+}$ , Либс и Штуер разработали детальную модель денатурации ДНК ионами меди [63]. Несколько отличная модель была предложена Фостером [38], который предположил, что связывание ионов  $\text{Cu}^{2+}$  с цитозином происходит в том случае, когда цитозин в результате флуктуации перемещается в наружную часть двойной спирали. По завершении связывания основания уже не могут вернуться в исходное положение, что и является локальной денатурацией ГЦ-пар, причем вероятность необходимых флуктуаций увеличивается с ростом температуры.

К сходным эффектам должны приводить и катионы других переходных металлов, поскольку все они обладают тенденцией к взаимодействию с гуанин-цитозиновыми парами. Такого рода эффекты были четко продемонстрированы для ионов марганца [11, 45, 66]. Ионы  $\text{Mn}^{2+}$  стабилизируют нативную конформацию ДНК при низких концентрациях, однако с ростом концентрации ионы  $\text{Mn}^{2+}$  проявляют дестабилизирующие эффекты, которые выражены намного сильнее в случае

ДНК с повышенным содержанием ГЦ-пар [66]. Андерсон [11] показал, что ионы  $Mn^{2+}$  начинают дестабилизировать ДНК из *E. coli* (50% ГЦ-пар) при соотношениях  $Mn^{2+}/ДНК-Ф$  больших 2,5, в то время как поли-ДАТ стабилизируется ионами  $Mn^{2+}$  при любой концентрации металла. Однако существуют и значительные различия в эффектах  $Mn^{2+}$  и  $Ca^{2+}$ . Прежде всего, эффект стабилизации ДНК ионами  $Mn^{2+}$  намного выше и достигает величины  $+12 - 20^{\circ}C$  [45, 66]. Кроме того, дестабилизация ДНК, инициируемая ионами  $Mn^{2+}$ , всегда относительна, поскольку температура плавления комплекса ДНК- $Mn^{2+}$  никогда не опускается ниже температуры плавления чистой ДНК. Весьма похожую на  $Mn^{2+}$  картину дают ионы  $Co^{2+}$  (рис. 3) и  $Ni^{2+}$ . При малых кон-

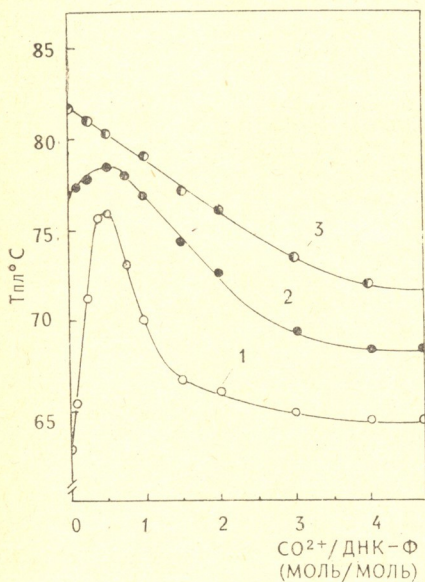


Рис. 3. Зависимость температуры плавления ДНК от концентрации ионов  $Co^{2+}$  в растворах: 1—0,005M NaCl; 2—0,05M NaCl; 3—0,1M NaCl [4]

центрациях оба эти металла стабилизируют ДНК, взаимодействуя, в основном, с фосфатными группами; с увеличением же концентрации ионов кобальта и никеля температура плавления ДНК начинает снижаться [4]. Надо отметить, что с ростом концентрации ионов  $Na^+$  стабилизирующий эффект ионов  $Co^{2+}$  полностью нивелируется, в то время как дестабилизация ДНК проявляется наиболее четко, что согласуется с данными о связывании ионов  $Co^{2+}$  с основаниями ДНК [103].

Ионы переходных металлов сильно влияют и на кооперативность перехода спираль-клубок в ДНК [34, 45, 66]. Особенно ярко этот эффект проявляется в случае комплексов ДНК- $Co^{2+}$ : полуширина интервала денатурации сужается до  $3^{\circ}C$  [4]. По-видимому, предпочтительное связывание переходных катионов с ГЦ-парами ослабляет ГЦ-богатые области ДНК по сравнению с АТ-богатыми и инициирует более кооперативный переход.

Как уже говорилось выше, щелочноземельные катионы стремятся в основном к взаимодействию с фосфатными группами и должны значительно повышать термостабильность двойной спирали. Эффект влияния  $Mg^{2+}$  на денатурацию ДНК впервые наблюдал Томас [102]. Он обнаружил, что концентрация NaCl, необходимая для сохранения нативной конформации ДНК, в 100 раз больше необходимой концентрации  $MgCl_2$ . Впоследствии Эйхорн [30], Дов и Дэвидсон [28], Цимер [105], Перлгот [79], Рекорд [81], Фаис [9], Геташвили [5] также регистрировали эффект сильной термостабилизации ДНК ионами

$Mg^{2+}$ . Однако Лайонс в США [67] и Баба в Японии [12] наблюдают, что при концентрациях  $Mg^{2+}$  выше и ниже той, которая соответствует равновесию зарядов в системе катион-фосфат, температура плавления ДНК снижается. Эффект снижения термостабильности двойной спирали при увеличении концентрации ионов магния был зарегистрирован группой Ю. П. Благого в Харькове [3]. Поскольку до сих пор не было обнаружено взаимодействия ионов  $Mg^{2+}$  с основаниями ДНК, причины такой дестабилизации неясны, и сами авторы этих экспериментов не могут указать даже ее ориентировочный механизм. Согласно же данным некоторых работ [5, 9, 28, 30, 79, 81, 105] ионы  $Mg^{2+}$  повышают температуру плавления ДНК на 20—30°C (рис. 4). Следует отме-

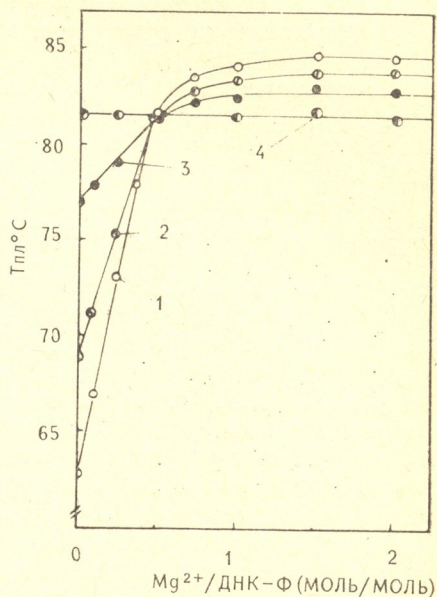


Рис. 4. Зависимость температуры плавления ДНК от концентрации ионов  $Mg^{2+}$  в растворах: 1—0,005 M NaCl; 2—0,01 M NaCl; 3—0,05M NaCl; 4—0,1M NaCl [5]

тить, что увеличение концентрации ионов  $Na^+$  ведет к конкуренции за фосфатные центры, в результате чего эффект ионов  $Mg^{2+}$  постепенно нивелируется [81]. Зависимость полуширины температурного интервала плавления имеет колоколообразный характер [3], что указывает на «скрепочный» механизм действия ионов  $Mg^{2+}$ .

Аналогичным образом влияют на термостабильность ДНК ионы  $Ca^{2+}$  и  $Ba^{2+}$ , а также  $Sr^{2+}$ . Согласно данным Венера, ионы  $Ba^{2+}$  и  $Sr^{2+}$  повышают температуру плавления ДНК на 25—26°C, а ионы  $Ca^{2+}$  — на 23°C [105]. Сходные величины были получены Геташвили [6], а также Диксом [27], причем согласно данным Дикса эффект стабилизации выражен сильнее в случае АТ-богатых ДНК. Увеличение стабильности двойной спирали объясняется им не только на основании образования катионных мостиков между фосфатами, но и вследствие образования более упорядоченной структуры воды, прилежащей к ДНК, и инициированного катионами. В одной из недавних работ Хенлон [48] было показано, что сильное влияние двухвалентных катионов на термостабильность ДНК, обусловлено более эффективным экранированием электростатических взаимодействий, как вдоль фосфатного остова, так и между участками оснований, несущими отрицательный заряд, и фосфатными группами.

Следует отметить, что сильные эффекты стабилизации ДНК щелочноземельными катионами могут играть отрицательную роль в ре-

продукции генетической информации. Эйхорном была предложена следующая гипотеза [32]. При низкой концентрации ионов  $Mg^{2+}$  существует сравнительно слабая тенденция к взаимодействию цепей. Поэтому будут взаимодействовать только пары оснований, образующие наиболее прочные связи, т. е. комплементарные пары. При повышении концентрации катионов взаимодействие цепей становится столь сильным, что чувствительность к комплементарности теряется, в результате чего появляются нарушения в считывании генетического кода. Эксперименты, проведенные с использованием метода ЯМР, подтвердили, что щелочноземельные катионы могут инициировать ошибочное спаривание оснований [32].

## 5. Двухвалентные катионы и ренатурация ДНК

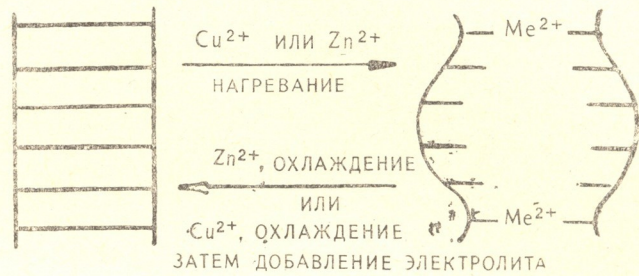
Хорошо известно, что при охлаждении растворов денатурированной ДНК наблюдается небольшое понижение оптического поглощения раствора в результате возникновения водородных связей в пределах одной цепи, с образованием петель. Вместе с тем охлаждение раствора ДНК- $Cu^{2+}$  не сопровождается понижением поглощения [51, 105]. Отсюда следует, что при понижении температуры ионы  $Cu^{2+}$  остаются связанными с основаниями ДНК, что и препятствует образованию петель. Однако ионы  $Cu^{2+}$  способствуют удержанию цепей ДНК в раскрученном состоянии только при низкой ионной силе. При добавлении электролита, допустим 0,05 М NaCl, двойная спираль полностью реассоциируется, что доказывается восстановлением исходного поглощения [22, 51, 105], данными седиментации в градиенте плотности [22] и восстановлением способности к биологической трансформации [51]. Поскольку ионы  $Cu^{2+}$  образуют поперечные связи между цепями, они способны поддерживать одиночные цепи на близком расстоянии, чтобы при термодинамически благоприятных условиях могла восстановиться двойная спираль. В работах Холман [52], Цимера [113], Ришара [25] и др. было получено большое количество данных, подтверждающих эту схему ренатурации ДНК. Во-первых, ренатурация комплекса ДНК- $Cu^{2+}$  оказалась весьма чувствительной к ГЦ-составу: так, АТ-богатая ДНК не ренатурировала вообще [113], так как малое число «медных мостиков» было недостаточно для восстановления нативной структуры. Во-вторых, Холман установила, что ионы  $Cu^{2+}$  высвобождаются в процессе ренатурации ДНК и равновесие реакции:

$Cu^{2+}$  — внутр. центр ДНК  $\rightleftharpoons$   $Cu^{2+}$  (свободн.) + внутр. центр ДНК сильно зависит от ионной силы [52]. При достаточно большой ионной силе равновесие смещается таким образом, что наступает полная диссоциация комплекса, и ДНК, без затруднений, связанных с «узнаванием» комплементарных пар, возвращается в нативное состояние. Наконец, при метилировании ДНК в положении  $N_7$  гуанина ренатурация не наблюдается, что можно понять как результат блокировки центров, необходимых для образования «мостика» [113]. Ионы  $Zn^{2+}$  также обеспечивают полную ренатурацию ДНК, при определенных условиях. Согласно данным Шина [92], ионы цинка при соотношении  $Zn^{2+}/ДНК-Ф=2$  инициируют полное восстановление гипохромизма ДНК при охлаждении раствора. Таким образом, в случае ионов цинка для ренатурации необходимо только охлаждение раствора ДНК, а в случае ионов меди необходимо также повышать концентрацию ионов натрия (рис. 5). Очевидно, ионы связываются с основаниями менее прочно и, при охлаждении раствора, легко вытесняются из внутренних центров связывания; ионы меди связываются более прочно и удалить их можно только с помощью более резкого воздействия — увеличения



ионной силы раствора. В то же время, ионы щелочноземельных металлов не способствуют ренатурации ДНК, поскольку взаимодействуют только с фосфатными группами. По изменению относительного сродства к фосфатам и основаниям ДНК ионы металлов можно расположить в следующий ряд:  $Mg^{2+} > Co^{2+}, Ni^{2+} > Mn^{2+} > Zn^{2+} > Cu^{2+}$ ,

Рис. 5. Схематическое изображение обратимого раскручивания и скручивания двойной спирали в присутствии ионов  $Cu^{2+}$  и  $Zn^{2+}$



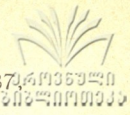
причем ряд этот коррелирует с влиянием металлов на ренатурацию ДНК [34].

В заключение, хочется остановиться на возможных биологических эффектах двухвалентных катионов. Во-первых, связывание переходных катионов с основаниями ДНК способствует переходу ДНК в С-подобную форму и индуцирует локальные изменения конформации вблизи ГЦ-пар. Этот процесс может привести к определенной модификации характера специфического узнавания ГЦ-пар. Кроме того, можно предполагать, что включение ионов металлов в связывающие центры ДНК предотвращает другие специфические взаимодействия между этими центрами и боковыми цепями других информационных макромолекул; в случае необходимости ионы металлов выходят в раствор, давая доступ другим, функционально связывающимся, группам. Наконец, и репликация, и транскрипция требуют раскручивания двойной спирали и ее последующего скручивания. Весьма заманчиво предположить, что ионы металлов, необходимые для этих процессов, вызывают раскручивание и скручивание ДНК и в биологических системах, однако к настоящему времени все еще нет прямых доказательств, подтверждающих правильность такого предположения.

### ЛИТЕРАТУРА

1. Андроникашвили Э. Л., Мосулишвили Л. М., Манджгаладзе В. П., Белокобыльский А. Н., Харабадзе Н. Е., Ефремова Е. Ю. ДАН СССР, 195, 979—982, 1970.
2. Белокобыльский А. Н., Жинтури Е. Н., Мосулишвили Л. М., Харабадзе Н. Е. Биофизика, 13, 950—956, 1968.
3. Благоев Ю. П., Сорокин В. А., Валиев В. А., Гладченко Г. О. Мол. биол., 12, 795—805, 1978.
4. Геташвили Г. Р., Герасимов В. В. Респ. II науч. конф. молодых ученых-биологов и аспирантов Груз. ССР, «Мецниереба», Тбилиси, 1976, 191—192.
5. Геташвили Г. Р., Герасимов В. В., Заалишвили М. М. Stud. Biophys., 60, 83—88, 1976.
6. Геташвили Г. Р., Герасимов В. В. V Респ. науч.-техн. конф. молодых ученых и специалистов, Тбилиси, 1976, 218.
7. Ингрэм В. Биосинтез макромолекул, «Мир», М., 1975, 117.

8. Тихонова Л. Н., Русак А. Ф. ЖФХ, 52, 2683—2685, 1978.
9. Фаис Д. Биохимия, 28, 1018—1028, 1963.
10. Шеварднадзе Л. М. Изв. АН ГССР, сер. биол, 1, 5479—485, 1975.
11. Anderson J. A., Kuntz G. R., Evans H. H., Swift T. T. Biochemistry, 10, 4368—4374, 1971.
12. Baba Y., Kagemoto A. Biopolymers, 13, 339—344, 1974.
13. Banerjee P. K. Biophysical chemistry. Metal ions DNA interaction. «Today and Tomorrow's Print and Publ.», New Delhi, 1979.
14. Berg P., Fansher H., Chamberlain M. Symposium on Informational Macromolecules. Academic Press, New York, 1963, 467—471.
15. Berg P., Fansher H. Informational Macromolecules. Academic Press, New York, 1973, 46—64.
16. Berger N. A., Eichhorn G. L. J. Am. Chem. Soc., 93, 7062—7068, 1971.
17. Berger N. A., Eichhorn G. L. Biochemistry, 10, 1847—1857, 1971.
18. Cantor K. P., Hearst J. E. J. Mol. Biol., 49, 213—229, 1970.
19. Carrabine J. A., Sundaralingam M. J. Am. Chem. Soc., 92, 369—377, 1970.
20. Chang H. C., Lane M. D. J. Mol. Biol., 214, 2413—2421, 1960.
21. Chang L. M., Bollum F. J. Federation Proc., 29, 406—409, 1970.
22. Clark P., Eichhorn G. L. Proc. Nat. Acad. Sci USA, 53, 586—590, 1965.
23. Clark G. R., Orbell J. D. Chem. Soc. Chem. Commun., 16, 697—698, 1978.
24. Cohn M., Hughes T. J. Biol. Chem., 237, 176—182, 1962.
25. Daune M. Metal Ions in Biological Systems, 3, 1974, 1—43.
26. Demerec N., Hanson J. Cold Spring Harbor Symp. Quant. Biol., 16, 215—219, 1951.
27. Dix D., Straus D. B. Arch. Biochem. Biophys., 152, 299—310, 1972.
28. Dowe W. F., Davidson N. J. Mol. Biol., 5, 467—478, 1962.
29. Eichhorn G. L. Inorganic Biochemistry. Elsevier Publ. Co., Amsterdam, 1191—1210, 1976.
30. Eichhorn G. L. Nature, 194, 474—475, 1962.
31. Eichhorn G. L. Adv. Chem., 100, 135—139, 1971.
32. Eichhorn G. L., Berger N. A., Butzow J. J., Clark P., Heim J., Richardson C., Rifkind J. M., Shin J. Metal Ions in Biological Systems, 40, 1973, 43—66.
33. Eichhorn G. L., Clark P., Becker E. D. Biochemistry, 5, 245—253, 1966.
34. Eichhorn G. L., Shin Y. A. J. Amer. Chem. Soc., 90, 7323—7331, 1968.
35. Eisinger J., Shulman R. G., Szymanski B. M. J. Chem. Phys., 36, 1721—1729, 1962.
36. Englund P. T., Huberman J. A., Jovin T. M., Kornberg A. J. Biol. Chem., 244, 3038—3048, 1969.
37. Fiskin A. M., Beer M. Biochemistry, 4, 1289—1294, 1965.
38. Förster W., Bauer E., Schultz N., Berg H. Biopolymers, 18, 625—661, 1979.
39. Fox C. F., Weiss C. B. J. Biol. Chem., 239, 175—183, 1964.
40. Friedman S. M., Weinstein J. B. Biochem. Biophys. Res. Com., 21, 339—343, 1965.
41. Fritzsche H. A. Stud. Biophys., 40, 103—104, 1973.
42. Fritzsche H. A., Zimmer Ch. Eur. J. Biochem., 5, 42—44, 1968.
43. Fujioka M., Liberman J. J. Biol. Chem., 239, 1164—1167, 1964.
44. Furth J. J., Rosenberg M., Ho P. L. J. Cell Physiol., 69, 209—215, 1967.
45. Getashvili G. R., Gerasimov V. V., Zaalisvili M. M. Stud. Biophys., 60, 89—97, 1976.
46. Govil G., Nanda R. Indian J. Biochem. Biophys., 15, 1—4, 1978.



47. Glassman T. A., Suchy J., Cooper G. *Biochemistry*, 12, 2430—2437, 1973.

48. Hanlon S., Berman S. *Biochim. Biophys. Acta*, 519, 526—536, 1978.

49. Happe J. A., Ward R. L. *J. Phys. Chem.*, 83, 3457—3462, 1979.

50. Heller M. J., Jones A. J., Tu A. T. *Biochemistry*, 9, 4981—4786, 1970.

51. Hiai S. *J. Mol. Biol.*, 11, 672—691, 1965.

52. Holman L. P., Jordan D. O. *Biopolymers*, 11, 1161—1684, 1972.

53. Hoppe J. A., Morales M. *J. Am. Chem. Soc.*, 88, 2077—2085, 1966.

54. Jennette K. W., Lippard S. J., Ucko D. A. *Biochim. Biophys. Acta*, 402, 403—412, 1975.

55. Jordan F., McFarguhar B. Y. *J. Amer. Chem. Soc.*, 94, 6557—6558, 1972.

56. Kalpel R. L., Bertelscu A. H., Fresco J. R. *Biochemistry*, 19, 504—512, 1980.

57. Kato K. J., Goncalves J. M., Hauts G., Bollum F. J. *J. Biol. Chem.*, 242, 2780—2786, 1967.

58. Kotowycz G. *Can. J. Chem.*, 52, 924—929, 1974.

59. Krakauer H. *Biopolymers*, 10, 2489—2490, 1971.

60. Krakauer H. *Biochemistry*, 13, 2579—2589, 1974.

61. Krigbaum W. R., Godwin R. W. *Macromolecules*, 1, Academ. Press, New York—London, 1968, 375.

62. Kroeger H. *Exp. Cell. Res.*, 41, 64—80, 1966.

63. Liebe D. C., Stuehr J. E. *Biopolymers*, 11, 167—184, 1972.

64. Lindegreen C. C., Nagai H. *Nature*, 182, 446—448, 1958.

65. Litman R. M. *J. Mol. Biol.*, 61, 1—23, 1971.

66. Luck G., Zimmer Ch. *Eur. J. Biochem.*, 29, 528—536, 1972.

67. Lyons J. W., Kotin L. *J. Amer. Chem. Soc.*, 87, 1781—1794, 1965.

68. Martin R. Bruce, Mariam Yitback H. *Metal Ions. Biol. Syst.*, 8, New York—Basel, 1979, 57—124.

69. Maskos K. *Acta Biochim. Pol.*, 25, 101—111, 1978.

70. Matsavinovs R., Cannelakis E. S. *J. Biol. Chem.*, 234, 628—635, 1959.

71. Meester P., Goodgame D. M. L., Skapski A. C. *Biochim. Biophys. Acta*, 353, 392—394, 1974.

72. Meester P., Goodgame D. M. L., Skapski A. C. *Biochim. Biophys. Acta*, 340, 113—115, 1974.

73. Meester P., Goodgame D. M. L., Skapski A. C. *Biochim. Biophys. Acta*, 139, 791—792, 1974.

74. Melgar E., Goldthwait D. A. *J. Biol. Chem.*, 243, 4409—4416, 1968.

75. Mohan M. S., Rechnitz G. A. *Arch. Biochem. Biophys.*, 162, 194—199, 1974.

76. Nacamoto T., Fox C. F., Weiss C. B. *J. Biol. Chem.*, 239, 167—177, 1964.

77. Ogawa M., Sakagushi T. *Chem. a. Pharm. Bull.*, 20, 190—193, 1972.

78. Pegg A. E., Korcker A. *Arch. Biochem. Biophys.*, 118, 362—366, 1967.

79. Perlgut L. E., Amemiya K. *Arch. Biochem. Biophys.*, 132, 370—376, 1969.

80. Plawman K. M., Krall A. R. *Biochemistry*, 4, 2809—2816, 1965.

81. Record M. T. *Biopolymers*, 14, 2137—2158, 1975.

82. Reimarsson P., Parello J., Drakenberg T., Gustavsson H., Lindman B. *FEBS Lett.*, 108, 439—442, 1979.

83. Richardson C. C., Schildkrant C. L., Kornberg A. *J. Biol. Chem.*, 239, 222—232, 1964.

84. Rifkind J. M., Eichhorn G. L. *J. Amer. Chem. Soc.*, 94, 6526—6534, 1972.

85. Roberts R. B., Eldous E. *Cold Spring Harbor Quant. Biol.*, 16, 20—21, 1951.

65859/1

კ. შარტოს სპ. სეკ. სსრ  
საბუნებისმეტყველო მეცნიერებათა  
ბიბლიოთეკა



86. Schneider P. W., Brintzinger H. *Helv. Acta*, 47, 992—996, 1964.
87. Schreiber J. P., Daune M. *Biopolymers*, 8, 139—152, 1969.
88. Shack J., Bynum B. S. *Nature*, 184, 635—636, 1959.
89. Shack J., Bynum B. S. *J. Biol. Chem.*, 239, 3843—3848, 1964.
90. Shack J., Jenkins R. J., Thompsett J. M. *J. Biol. Chem.*, 203, 373—380, 1953.
91. Shin Y. A. *Biopolymers*, 12, 2459—2475, 1973.
92. Shin Y. A., Eichhorn G. *Biochemistry*, 7, 1026—1034, 1968.
93. Sletten E. *Chem. Commun.*, 18, 1119—1121, 1967.
94. Sletter J. P., Mildvan A. S., Loeb L. A. Personal communication, New York, 1968.
95. Smith R. M., Alberty R. A. *J. Am. Chem. Soc.*, 78, 2376—2381, 1956.
96. So A. G., Davis E. W. *Biochemistry*, 3, 1165—1172, 1964.
97. Son Tran-Dink., Roux M., Ellenberger M. *Nucl. Acids Res.*, 2, 1101—1110, 1975.
98. Steck T. L., Caicuts M. J., Wilson R. G. *J. Biol. Chem.*, 243, 2769—2775, 1968.
99. Sternlicht H., Shulman R. G., Anderson E. W. *J. Chem. Phys.*, 43, 3123—3131, 1965.
100. Stone A. B., Barton R. *Biochem. J.*, 83, 492—498, 1962.
101. Szer W., Ochoa S. *J. Mol. Biol.*, 81, 823—831, 1964.
102. Thomas R. *Biochim. Biophys. Acta*, 14, 231—234, 1954.
103. Torreills J. *Biochimie*, 55, 845—850, 1973.
104. Tu A. T., Friederich C. G. *Biochemistry*, 7, 4367—4377, 1968.
105. Venner H., Zimmer Ch. *Biopolymers*, 4, 321—335, 1966.
106. Wacker W. E., Vallee B. L. *Nature*, 184, Suppl., 18, 1399, 1959.
107. Wacker W. E., Vallee B. L. *J. Biol. Chem.*, 234, 3257—3262, 1959.
108. Walker W. R., Guo J. M., Li N. C. *Austral. J. Chem.*, 26, 2393—2397, 1973.
109. Weed L. L. *J. Bacteriol.*, 85, 1003—1009, 1963.
110. Widnell C. C., Tata J. R. *Biochem. J.*, 92, 313—316, 1964.
111. Willemsen A. M., Van Os G. A. *Biopolymers*, 10, 945—960, 1971.
112. Zimmer Ch. *Z. Chem.*, 11, 441—458, 1971.
113. Zimmer Ch., Luck G., Fritzsche H., Triebel H. *Biopolymers*, 10, 441—458, 1971.
114. Zimmer Ch., Luck G., Triebel H. *Biopolymers*, 13, 425—453, 1974.
115. Zimmer Ch., Venner H. *Stud. Biophys.*, 2, 207—213, 1967.
116. Zimmer Ch., Venner H. *Eur. J. Biochem.*, 25, 40—47, 1970.

ორგანელტანი მებტლების იონთა გავლენა ღნმ-ის სტრუქტურასა და ფუნქციასზე

ბ. ბატაზვილი, მ. ჯალოზვილი

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

რეზიუმე

ნაშრომში განხილულია ღნმ-ის ორგანელტან კათიონებთან ურთიერთქმედების სხვადასხვა ასპექტი: ამ კათიონების დამაკავშირებელი ცენტრების ბუნება ნუკლეოტიდებში, ნუკლეოზიდებში, პოლინუკლეოტიდებში და ნატივეურ ღნმ-ში. განსაკუთრებული ყურადღება აქვს დათმობილი ღნმ-ის თერ-

მოსტაბილობაზე ორვალენტური კატიონების ზემოქმედების საკითხს. განხილულია  $Cu^{2+}$  და  $Zn^{2+}$  იონების თანდასწრებით დნმ-ის რენატურაციის მექანიზმები.



## INFLUENCE OF DIVALENT METAL IONS ON STRUCTURE AND FUNCTION OF DNA

G. R. GETASHVILI, M. M. ZAALISHVILI

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

### S u m m a r y

The data concerning various aspects of metal ions interaction with DNA are surveyed. The nature of binding sites in nucleosides, nucleotides, polynucleotides and native DNA is discussed. The effects of metals of the first transition row and of the alkaline earth metals are considered with special attention. Mechanisms of DNA renaturation in the presence of cupric and zincum ions are discussed.

УДК 612.826

ФИЗИОЛОГИЯ ЧЕЛОВЕКА И ЖИВОТНЫХ

## ЭЛЕКТРОФИЗИОЛОГИЧЕСКОЕ ИССЛЕДОВАНИЕ ВЗАИМОДЕЙСТВИЯ ГИПОТАЛАМУСА И ГИППОКАМПА КОШКИ

А. А. Унгиадзе, Д. Ш. Давитулиани

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

Поступила в редакцию 03.07.1981

Изучены взаимоотношения между гиппокампом и латеральным гипоталамусом. Раздражение дорсального гиппокампа подавляет электрическую активность различных структур мозга, вызванную стимуляцией латерального гипоталамуса и сенсорными раздражениями. Стимуляция вентрального отдела гиппокампа облегчает ответы дорсального гиппокампа на раздражение латерального гипоталамуса. Различие эффектов объясняется наличием дифференцированных проекций между различными отделами гиппокампа, гипоталамическими образованиями и септальными ядрами.

Гиппокамп, одна из основных структур лимбической системы, обладает обширными афферентными и эфферентными связями, как с подкорковыми структурами, так и с новой корой [29, 32, 36]. Эти связи определяют роль гиппокампа в проявлении вегетативных и соматических компонентов эмоциональных ответов организма [1, 6, 33].

Большое количество исследований указывает на наличие связей между гиппокампом и гипоталамусом [25, 26, 36]. Были экспериментально проверены ранние концепции о проведении импульсов от гиппокампа через свод к гипоталамусу и доказана возможность распространения импульсов и от гипоталамуса к гиппокампу [24, 27]. Были обнаружены проекции от гиппокампа к воронкообразному отделу гипоталамуса, включающему вентромедиальное, дорсомедиальное, дугообразное и диффузное супраоптическое ядра. Кроме того, обнаружены волокна, которые восходят из латерального гипоталамуса к области перегородки, а оттуда — в гиппокамп [32]. Есть указания о существовании дифференцированных проекций различных отделов гипоталамуса с различными отделами и полями гиппокампа [7, 10, 35].

В настоящем сообщении представлены результаты электрофизиологического изучения взаимоотношений между латеральным гипоталамусом и дорсальным и вентральным гиппокампом.

### МЕТОДИКА

Исследования проводились в условиях хронического опыта на кошках. Константановые электроды, диаметром неизолированного кончика в 120—200 мкм, стереотаксически вживлялись в различные структуры мозга (дорсальный и вентральный гиппокамп, латеральный гипоталамус и др.). Регистрация электрической активности производилась

8-канальным электроэнцефалографом фирмы «Медикор» и двухлучевым катодным осциллографом «Диза электроник». Отведение — монополярное; раздражение — биполярное, прямоугольными импульсами (продолжительность 0,2 мс). Локализация электродов верифицировалась на фронтальных срезах мозга животных.

## РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Известно, что в зависимости от силы применяемого раздражения латерального гипоталамуса могут наблюдаться различные по характеру реакции животного — от настороженности до реакции «тревоги» и страха с фырканьем и избеганием [8], а также эпилептические судороги [11] с сопутствующими им изменениями в электрической активности гиппокампа.

В настоящем исследовании, при силе раздражения латерального гипоталамуса, которая у кошек вызывала реакцию настороженности, наблюдалась синхронизация электрической активности в вентральном гиппокампе. На фоне этого раздражения стимуляция заднедорсального гиппокампа, внешне не вызывающая каких-либо хорошо выраженных поведенческих реакций, влечет к смене синхронизированной электрической активности десинхронизацией. По прекращении раздражения дорсального гиппокампа наблюдалось восстановление синхронизированной активности вентрального гиппокампа. Этот факт иллюстрируется рис. 1, на котором видно подавляющее влияние дорсального

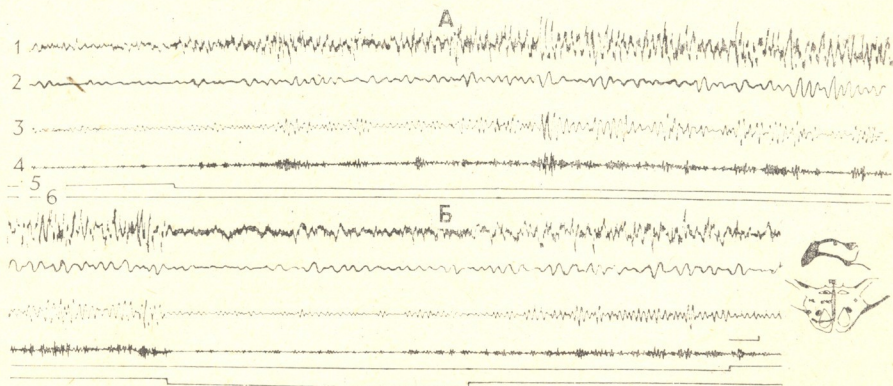


Рис. 1. Влияние раздражения дорсального гиппокампа на электрическую активность вентрального гиппокампа, регистрируемую на стимуляцию латерального гипоталамуса: 1—суммарная электрическая активность вентрального гиппокампа; 2—4 — спектральный анализ дельта-, тета-, и альфа-ритмов гиппокампа; 5—отметка раздражения латерального гипоталамуса (2В, 200 в с); 6—отметка раздражения дорсального гиппокампа (2,5В, 200 в с). Запись Б—продолжение А. Калибровка на рис. 1, 3, 4: время—1 мс, амплитуда—200 мкВ. На рис. 1 и 4 в нижнем правом углу—схематическое изображение раздражающихся точек гиппокампа и гипоталамуса

гиппокампа на электрическую активность вентрального, вызванную стимуляцией латерального гипоталамуса. Спектральный анализ отдельных ритмов ( $\sigma$ ,  $\theta$ ,  $\alpha$ ) показывает, что эффект синхронизации в ответ на раздражение латерального гипоталамуса происходит за счет учащения и увеличения в амплитуде всех медленных ритмов, в первую очередь тета-ритма.

Одиночное электрическое раздражение латерального гипоталамуса вызывает в дорсальном гиппокампе хорошо выраженный стабильный ответ, как у кроликов [12], так и у кошек. В наших опытах конфигурация вызванных ответов меняется в зависимости от интенсивности раздражения. В вентральном отделе гиппокампа кошки, как было отмечено и в ранее опубликованной работе на кроликах [12], регистрируется более сложный многофазный ответ, где за начальной электроположительностью следует отрицательное отклонение с рядом дополнительных отрицательно-положительных компонентов (рис. 2). Неоднородность в конфигурации вызванных потенциалов дорсального и вентрального гиппокампа была отмечена и в работе Лякас [7].

При применении парных одиночных раздражений, когда тестирующему раздражению латерального гипоталамуса, вызывающему ответ в вентральном гиппокампе, предшествовала стимуляция дорсального гиппокампа при определенных интервалах времени между стимулами (80 мс и менее), отмечалось подавление гиппокампального ответа: уменьшение амплитуды начального положительного и отрицательного компонентов и исчезновение ряда дополнительных колебаний (рис. 2, 3—7). Изолированное применение тестирующего раздражения латерального гипоталамуса вызывало вновь многокомпонентный ответ высокой амплитуды (рис. 2, 8). Этот ответ кажется даже облегченным, что, очевидно, происходит по типу отдачи.

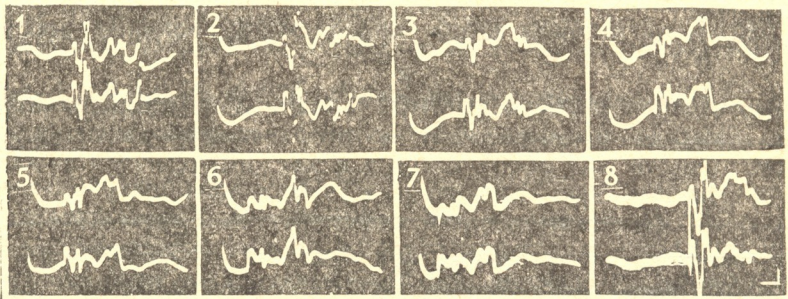


Рис. 2. Влияние дорсального гиппокампа на потенциалы вентрального гиппокампа, вызванные раздражением гипоталамуса (на обоих лучах разные точки поля  $CA_1$ ): 1 и 8—одиночные тестирующие ответы (гипоталамическое раздражение); 2—7—кондиционирующие (гиппокампальные) и тестирующие раздражения с различным межимпульсным расстоянием времени. Калибровка: время—10 мс, амплитуда—100 мкВ

Подавляющее влияние дорсального гиппокампа проявлялось не только в отношении ответов вентрального гиппокампа, вызванных раздражением латерального гипоталамуса, но и в отношении ответов на периферические раздражения. Результаты этих опытов иллюстрируются рис. 3. Вызванные потенциалы латерального гипоталамуса, энторинальной коры и вентрального гиппокампа в ответ на электрокожное раздражение передней лапы животного стабильны и не претерпевают изменений ни в амплитуде, ни в конфигурации при длительных периферических раздражениях. Однако, если этому раздражению предшествует стимуляция дорсального гиппокампа (4 в с), наблюдается полное исчезновение вызванных потенциалов во всех отводимых областях (рис. 3). И вновь только изолированное одиночное раздражение кожи вызывает хорошо выраженный ответ.

Имеются данные, указывающие на активирующее влияние гиппо-



кампа на тестирующие ответы в новой и энторинальной коре, а также в гипоталамусе [14, 18, 20, 28, 39].

Нами было изучено влияние активации вентрального гиппокампа на ответы дорсального отдела, вызванные раздражением того же ла-

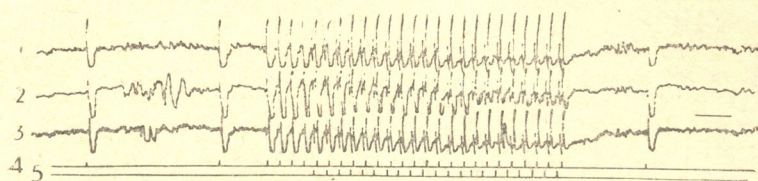


Рис. 3. Влияние раздражения гиппокампа на ответы различных структур мозга, вызванные кожным электрическим раздражением: 1—латеральный гипоталамус; 2—энторинальная кора; 3—вентральный гиппокамп; 4—отметка кожного электрического раздражения; 5—отметка раздражения дорсального гиппокампа

терального гипоталамуса. Если на фоне синхронизированной активности дорсального гиппокампа, вызванной стимуляцией латерального гипоталамуса, предъявлялась ритмическая стимуляция вентрального гиппокампа, наступало учащение и возрастание в амплитуде гиппо-

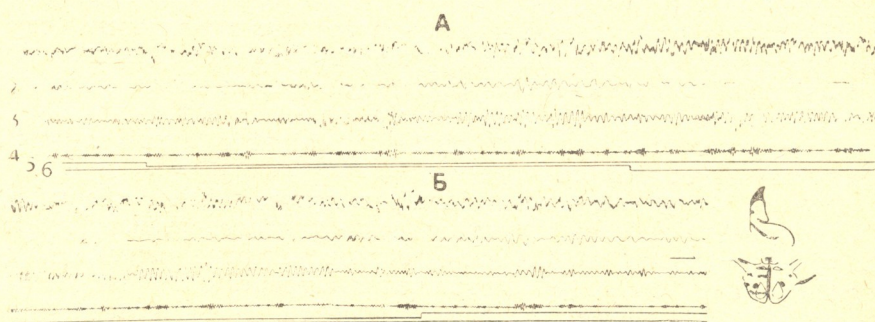


Рис. 4. Влияние вентрального гиппокампа на электрическую активность дорсального гиппокампа, вызванную раздражением латерального гипоталамуса: 1—суммарная электрическая активность дорсального гиппокампа; 2—4—спектральный анализ дельта-, тета- и альфа-ритмов гиппокампа; 5—отметка раздражения латерального гипоталамуса; 6—отметка раздражения вентрального гиппокампа. Запись Б—продолжение А

кампального тета-ритма. Вместе с тем имело место некоторое подавление дельта-компонента (рис. 4 А). Это облегчающее влияние некоторое время наблюдалось и после прекращения гиппокампального раздражения, затем суммарная электрическая активность возвращалась к исходному уровню (рис. 4 Б).

При одиночных раздражениях латерального гипоталамуса в дорсальном гиппокампе возникали коротколатентные ответы ((рис. 5, 1). При парной стимуляции, когда гипоталамическому раздражению предшествовало раздражение вентрального гиппокампа, наблюдалось не подавление вызванного потенциала, а его облегчение: увеличивалась

амплитуда начального положительно-отрицательного компонента ответа и возникали дополнительные, более поздние компоненты (рис. 5, 3—8).

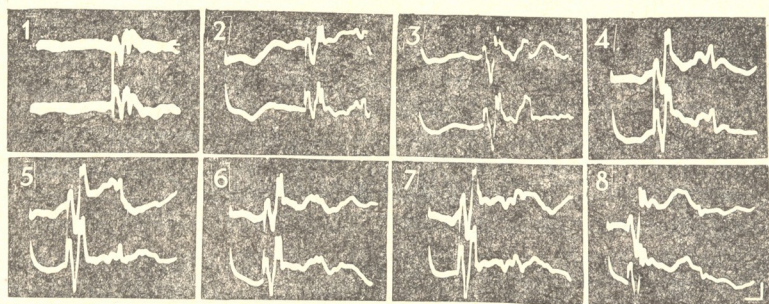


Рис. 5. Влияние вентрального гиппокампа на вызванные раздражением латерального гипоталамуса потенциалы дорсального гиппокампа (на обоих лучах—разные точки поля  $CA_1$ ): 1—тестирующее раздражение (3В, 1 в с); 2—8—кондиционирующее (2В, 1 в с) и тестирующее раздражения с различным межимпульсным интервалом времени. Калибровка: время—10 мс, амплитуда—100 мкВ

### ОБСУЖДЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ

По современным данным архи-палеокортекс является модулятором функционального состояния координирующих центров сложных мотивационно-эмоциональных реакций, локализованных в среднем и промежуточном мозгу [9]. В связи с этим в последнее время особое внимание уделяется изучению отдельных структур архи-палеокортекса и их взаимоотношениям.

Данные, полученные нами, еще раз подтверждают, что гипоталамус может активировать структуры архи- и палеокортекса [9], в данном случае—гиппокамп. Об этом говорит усиление гиппокампального тета-ритма под влиянием раздражения латерального гипоталамуса. Как известно, усиление гиппокампальной синхронизированной активности в диапазоне тета-ритма происходит со стороны мотивационных центров гипоталамуса [8, 15, 27, 34]. В свою очередь, гиппокамп может оказывать влияние на гипоталамус [9].

Морфологическое изучение гипоталамо-гиппокампальных проекций показало, что основной особенностью гипоталамуса является разнообразие обширных связей его различных частей с различными отделами и полями гиппокампа [36]. Проекции различных отделов гипоталамуса у крыс, кроликов и кошек к дорсальному гиппокампу были исследованы рядом авторов [5, 7, 24]. Раздражением разных отделов гипоталамуса и изучением вызванных потенциалов дорсального и вентрального гиппокампа было показано, что разные отделы гипоталамуса проецируются к различным отделам гиппокампа. Филогенетически более молодое образование—вентромедиальное гипоталамическое ядро имеет связи преимущественно с филогенетически также более молодым образованием в гиппокампе—его вентральным отделом. При стимуляции же латерального гипоталамуса вызванные потенциалы наиболее выражены в поле  $CA_2$  дорсального гиппокампа. Подытоживая экспериментальные данные, некоторые авторы [7, 10] приходят к заключению, что имеет место значительная специализация связей различных отделов гипоталамуса с различными отделами гиппокампа. При изучении взаимоотношений гипоталамуса и гиппокампа у кошек было ус-

тановлено несколько типов коротко- и длиннолатентных вызванных потенциалов в гиппокампе, в зависимости от локализации раздражающего электрода в гипоталамусе. Этот факт интерпретируется наличием моно- и полисинаптических связей гипоталамических образований с гиппокампом [24].

Известно, что основным релейным звеном восходящих путей к гиппокампу является прозрачная перегородка. Это важное функциональное реле на путях между ретикуло-гипоталамическими структурами и гиппокампом, и импульсация, восходящая из гипоталамуса, трансформируется в ее ядрах. На преимущественную связь дорсального гиппокампа с медиальным септальным ядром и вентрального гиппокампа с латеральным ядром перегородки указывает ряд работ [19, 31, 38].

В литературе имеются указания о тормозящей роли дорсального гиппокампа на спонтанную и вызванную электрическую активность различных структур мозга животных. При стимуляции дорсального гиппокампа кролика было обнаружено наличие торможения нейронов переднего и среднего гипоталамуса [16]. При стимуляции у кошек дорсального гиппокампа и перегородки одиночными ударами тока наблюдалось резкое преобладание тормозных влияний на спонтанную электрическую активность нейронов заднего гипоталамуса и на ответы, вызванные здесь световыми и болевыми раздражениями [21, 30, 40]. Тормозное влияние дорсального гиппокампа отмечено и в отношении ответов зрительной и слуховой коры, вызванных центральной стимуляцией [17, 37]. При стимуляции гиппокампа ослабевают или полностью исчезают ответы нейронов прозрачной перегородки на сенсорные раздражения [2] и на раздражение свода и бахромки [22]. Вместе с тем имеются данные, указывающие на двойственность влияний гиппокампа на нейроны новой коры [3, 4]. В ряде работ отмечается, что низкочастотная стимуляция гиппокампа, также как и высокочастотная, вызывает облегчение вызванных потенциалов неокортекса [20, 28]. В опытах на сумчатых наблюдалось облегчение тестирующего ответа в энторинальной коре при предъявлении в качестве кондиционирующего — раздражение вентрального гиппокампа [18]. По данным Зигеля и Флина [39] вентральный гиппокамп оказывает тонизирующее облегчающее влияние на гипоталамические нейроны. Элюль [23] отмечает легкую активацию дорсального гиппокампа под влиянием вентрального. Кроме того, при изучении взаимоотношений между различными отделами гиппокампа и энторинальной корой было показано, что дорсальный гиппокамп угнетает, а вентральный облегчает ответы энторинальной области. На основании этих опытов было высказано предположение о возможности региональных различий в нервных связях дорсального и вентрального гиппокампа с энторинальной корой [13, 14].

Данные настоящего исследования также говорят о том, что дорсальный и вентральный гиппокампы оказывают разнородное влияние на активность, вызванную раздражением латерального гипоталамуса. А именно, по этим данным активация дорсального гиппокампа оказывает подавляющее влияние на электрические эффекты вентрального гиппокампа, вызванные стимуляцией латерального гипоталамуса. Невозможно пока утверждать, на каком именно уровне разыгрываются эти процессы и какие структуры в них участвуют. Можно высказать только предположения. Вполне вероятно, что ответы вентрального гиппокампа, вызванные стимуляцией латерального гипоталамуса, угнетаются в результате влияния дорсального гиппокампа на нейронные популяции вентрального отдела. При этом нейроны вентрального гиппокампа оказываются не в состоянии регенерировать потенциалы в ответ на

гипоталамическое раздражение. Но не исключена возможность, что отмеченные взаимодействия имеют место на гипоталамо-септальном уровне. В пользу такого предположения говорят данные, иллюстрированные на рис. 3. Подавляющее влияние дорсального гиппокампа проявляется в отношении вызванных сенсорной стимуляцией ответов как вентрального гиппокампа, так и латерального гипоталамуса.

Как было отмечено выше, гиппокамп обладает обширными и разнообразными связями с различными структурами мозга, в частности с гипоталамусом. Была отмечена неоднородность связей дорсального и вентрального гиппокампа с различными гипоталамическими образованиями и септальными ядрами. Наличием таких связей, по всей видимости, должно быть обусловлено неоднородное влияние дорсального и вентрального гиппокампа на активность изучаемых нами структур мозга.

## ЛИТЕРАТУРА

1. Беритов И. С. Нервные механизмы поведения высших позвоночных животных, «Наука», М., 1961.
2. Виноградова О. С., Золотухина Л. И. Лимбическая система мозга, Пушино, 1973, 161—173.
3. Зарекшев Э. Г., Силаков В. Л. Физиол. ж. СССР, 60, 2, 154—162, 1974.
4. Ильюченко Р. Ю., Животиков Б. И. Журн. высш. нервн. деят., 22, 136—141, 1972.
5. Крачун Г. П. Электрофизиологическое исследование межцентральных функциональных связей гипоталамуса с миндалевидным комплексом и корковыми формациями мозга. Автореф. канд. дисс., Л., 1969.
6. Леонтович Т. А. Успехи соврем. биол., 65, 13—15, 1968.
7. Лякас Р. И. Физиол. ж. СССР, 59, 1023—1032, 1973.
8. Ониани Т. Н., Унгиадзе А. А., Абзианидзе Е. В. Нейрофизиология, 2, 497—505, 1979.
9. Ониани Т. Н., Унгиадзе А. А., Капанадзе Т. К., Бадридзе Я. К., Коридзе М. Г. Вопросы нейрофизиологии эмоций и цикла бодрствование-сон, «Мецниереба», Тбилиси, 1974, 25—63.
10. Соллертинская Т. Н., Лякас Р. И. Тез. 23 совещания по проблемам ВНД, Горький, 1972, 216.
11. Унгиадзе А. А. Сообщения АН ГССР, 52, 545—549, 1968.
12. Унгиадзе А. А. Физиол. ж. СССР, 55, 422—429, 1969.
13. Унгиадзе А. А. Сообщения АН ГССР, 76, 445—449, 1974.
14. Унгиадзе А. А., Давитулиани Д. Ш. Физиол. ж. СССР, 62, 38—46, 1976.
15. Унгиадзе А. А., Ониани Т. Н. Сообщения АН ГССР, 57, 489—495, 1970.
16. Филаретов А. А. Нейрофизиология, 6, 489—497, 1974.
17. Adey W. R., Segundo J. P., Livingston R. B. J. Neurophysiol., 20, 1—16, 1957.
18. Adey W. R., Sunderland M. D., Dunlop C. W. Electroenceph. clin. Neurology, 49, 309—324, 1957.
19. Brust-Carmona H., Alvarez-Leefmans F., Arditti L. Exp. Neurology, 40, 553—566, 1973.
20. Cazard P., Buser D. Electroenceph. clin. Neurophysiol., 15, 353—342, 1963.
21. Dafny N., Feldman S. Electroenceph. clin. Neurophysiol., 26, 578—586, 1969.

22. DeFrance J. F., Kitai S. T., Shimon T. Brain Res., **17**, 463—476, 1973.
23. Elul R. Electroenceph. clin. Neurophysiol., **16**, 470—488, 1964.
24. Feldman Sh. Exp. Neurology, **5**, 269—291, 1962.
25. Green J. D., Adey W. R. Electroencephal. clin. Neurophysiol., **8**, 245—262, 1956.
26. Herrick C. J. Proc. Natl. Acad. Sci. U. S., **19**, 7—119, 1933.
27. Kawamura H., Nakamura Y., Tokizane T. Jap. J. Physiol., **11**, 546—572, 1961.
28. Long R. G. J. Neurophysiol., **22**, 412—423, 1959.
29. Lorente de No. J. Für Psychol. u. Neurol., **46**, 113—145, 1934.
30. Mandelbrod I., Feldman Sh. Physiol. Behav., **9**, 565—572, 1972.
31. Moreover I., Siegel A., Tassoni J. J. Behav. Evol., **4**, 201—219, 1971.
32. Nauta W. J. H. J. comp. Neurol., **104**, 247—256, 1956.
33. Papez J. W. Arch. Neurol. Psychiat., **38**, 725—744, 1937.
34. Parmeggiani P. L. Structure and Function of Limbic System. Progress in the brain research, Amsterdam, London, New York, **27**, 1967, 413.
35. Raisman G. Brit. Med. Bull., **22**, 197—203, 1966.
36. Raisman G., Cowan W., Powell T. Brain, **89**, 83—108, 1966.
37. Redding F., Siegfried J. Electroencephal. clin. Neurophysiol., **14**, 588—598, 1962.
38. Siegel A., Edinger H., Ohgami Sh. J. comp. Neurol., **157**, 358—377, 1974.
39. Siegel A., Flynn J. P. Brain Res., **7**, 252—264, 1968.
40. Stuard D. G., Porter R. W., Adey W. R. Electroencephal. clin. Neurophysiol., **16**, 248—257, 1964.

## კატის ჰიპოთალამუსისა და ჰიპოკამპის ურთიერთმოქმედების ელექტროფიზიოლოგიური შესწავლა

ა. უზგიაძე, დ. დავითულიანი

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

### რეზიუმე

ქრონიკულ ცდებში შევისწავლიდით ჰიპოკამპისა და ლატერალური ჰიპოთალამუსის ფუნქციურ ურთიერთმოქმედებას. დორსალური ჰიპოკამპის გალიზიანება აკნინებს ლატერალური ჰიპოთალამუსის გალიზიანებით და სენსორული გამლიზიანებლების მოქმედებით გამოწვეულ ელექტრულ აქტივობას თავის ტვინის სხვადასხვა სტრუქტურებში. ვენტრალური ჰიპოკამპის გალიზიანება გამადვილებელ გავლენას ახდენს ლატერალური ჰიპოთალამუსის გალიზიანებით გამოწვეულ დორსალური ჰიპოკამპის პასუხებზე. ეფექტების განსხვავება აიხსნება დორსალურ და ვენტრალურ ჰიპოკამპსა და ჰიპოთალამუსის სტრუქტურებსა და გამჭვირვალე ძვიდის ბირთვებს შორის არსებული ნერვული კავშირების განსხვავებულობით.

# ELECTROPHYSIOLOGICAL STUDY OF THE RELATIONSHIP BETWEEN THE HYPOTHALAMUS AND THE HIPPOCAMPUS OF THE CAT

A. A. UNGIADZE, D. SH. DAVITULIANI

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

## S u m m a r y

The functional relationships of the dorsal and ventral hippocampus and the lateral hypothalamus were studied in chronic cats. The dorsal hippocampus was shown to suppress the responses in the ventral hippocampus elicited by the lateral hypothalamus stimulation and sensory stimulation. The ventral hippocampus exerts facilitatory effect on the dorsal hippocampal responses, evoked by the lateral hypothalamic stimulation.

It is suggested that the differences in nervous connections of different hippocampal area with the hypothalamus and septal nuclei seem to account for the discrepancy of the effects.

УДК 611—019

АНАТОМИЯ

## К УСТРОЙСТВУ СПИНАЛЬНЫХ НЕРВОВ РЫБ

В. С. Абашидзе

Тбилисский медицинский институт

Поступила в редакцию 30.04.1981

Методом анатомической препарировки были изучены спинальные нервные сплетения костистых рыб у трех представителей семейства карповых (храмули—*Varicorhinus capoëta* (Güld.), мурца—*Barbus mursa* (Güld.) и сазана *Cyprinus carpio* L.).

Большое сходство, обнаруженное в устройстве спинальных нервов изученных рыб, очевидно, следует объяснить их генетической близостью и почти одинаковым образом жизни. В то же время обнаружены интересные особенности в иннервации грудных плавников и хвоста, проявившиеся в утолщении нервов и усложнении связей между ними.

Вопрос об устройстве периферической нервной системы рыб все еще является наименее изученным разделом неврологии. А между тем именно на рыбах возможно непосредственно наблюдать за последовательными и постепенными преобразованиями, происходящими в периферических нервах позвоночных на первых этапах формирования нервных сплетений. Кроме того, и это очень важно, можно проследить и за тем, как то или иное усложнение или интенсификация функции конечности или части тела сказываются на устройстве соответствующих им нервов.

У рыб более изученными являются черепномозговые нервы, особенно головной мозг, который у этих животных меньше спинного мозга. В отношении спинальных нервов мы располагаем лишь немногочисленными данными [3—8].

Настоящее исследование ставит своей целью хотя бы частично восполнить пробел, существующий в литературе по этому вопросу.

Методом анатомической препарировки с использованием бинокулярной лупы была исследована периферическая нервная система рыб, имеющих различную экологию.

В данной работе мы остановимся на рассмотрении морфологических особенностей устройства спинальных нервов у представителей подсемейства *Barbini*.

Храмуля [*Varicorhinus capoëta* (Güld)], населяющая воды Закавказья, питается почти исключительно растительной пищей, покрывающей камни и другие придонные предметы. Животные компоненты, нередко появляющиеся в пище храмули, видимо, заглатываются случайно вместе с растительной пищей. У храмули приостренная нижняя губа, приспособленная для соскабливания растительных обрастаний. Глоточные зубы, как у усачей, трехрядовые [2].

Храмуля имеет 41 пару спинномозговых нервов. В различных отделах тела вентральные ветви имеют неодинаковую толщину. Наиболее толстыми являются первые четыре пары, иннервирующие грудные

плавники. В каудальном направлении происходит постепенное утолщение толщины нервов, но нервы брюшного и анального плавников, особенно хвоста, вновь заметно утолщаются.

Из нервов грудного плавника более толстыми являются 1 и 2-3-й, а 3 и 4-й — тоньше.

5—13-й нервы имеют почти одинаковую толщину, располагаются в межреберных промежутках и не устанавливают между собой связей. Как было отмечено, наблюдается некоторое утолщение 14—18-го нервов, иннервирующих брюшной плавник.

19—24-я пара нервов тоньше предыдущих и обмена пучками между ними нет.

Нервы 25—30-й, иннервирующие анальный плавник, незначительно утолщаются. Как видно, ограниченная функция этого почти редуцированного плавника не вызвала утолщения ее нервов. И наконец, начиная с 35-го, толщина последних нервов, образующих хвостовое сплетение, вновь заметно увеличивается.

Шейного сплетения у храмули нет. В иннервации головного плавника существует определенная вариабельность. Так возможно существование связей между всеми четырьмя нервами грудного плавника (рис. 1) или слияние 1 и 2-го нервов в единый ствол (рис. 2), вступающий в головной плавник и не образующий соединений с 3 и 4-м нервами. Следовательно, в сплетении головного плавника можно разграничить друг от друга краниальную группу, построенную первыми двумя нервами, и каудальную, состоящую из 3 и 4-го нервов. Четкое разделение плечевого сплетения на эти две группы постоянно отмечается у рептилий, краниальная группа которых иннервирует разгибатели и кожу тыльной поверхности передней конечности, а каудальная группа — сгибатели и кожу вентральной поверхности [1].

Сплетение головного плавника (рис. 1) характеризуется разветвленностью нервов и многочисленными связями. На рис. 1 видно, что

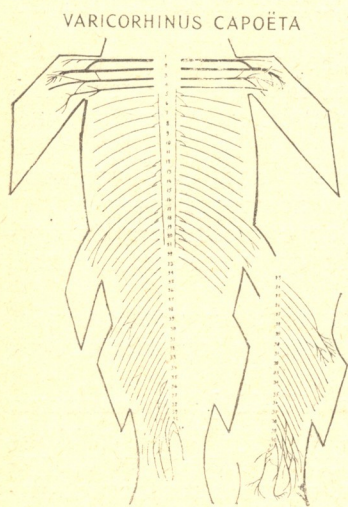


Рис. 1. Спинальные нервы храмули — вентральная поверхность

в состав краниальной группы, помимо 1 и 2-го нервов, была включена также и передняя ветвь 3-го нерва. Особенностью формирования этого сплетения следует признать образование связей в пределах плавника.



Брюшной плавник иннервируют 14—18-й нервы. В одном случае (рис. 2) между нервами этого плавника была отмечена перекрестная связь.

Заметно усложняются 35—41-й нервы, иннервирующие хвост и образующие сложноустроенное хвостовое сплетение; нервы этого сплетения иногда содержат пучки нескольких (до пяти) корешков.

Хвостовое сплетение храмули по внешней форме имеет некоторое сходство с поясничным сплетением высших позвоночных, что следует рассматривать как следствие высокой функциональной роли, которую хвост играет в локомоции рыбы.

Мурца [*Barbus mursa* (Güld)] — рыба средней величины, достигающая в длину 30 см, характеризуется наличием трехрядных глоточных зубов, короткими спинным и анальным плавниками. Взрослые особи питаются, главным образом, бентическими беспозвоночными, но потребляют в пищу также мелкую рыбу и икру других рыб [2].

Мурца имеет 34 пары спинальных нервов, из них заметно выделяются своей толщиной первые три пары (рис. 2).

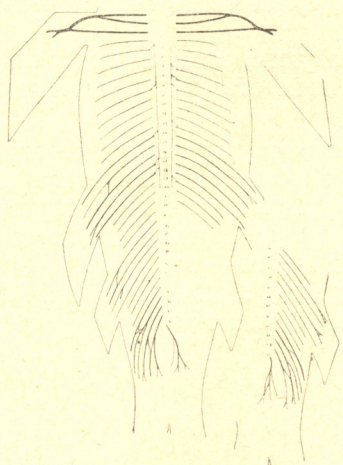


Рис. 2. Спинальные нервы мурца—  
вентральная поверхность

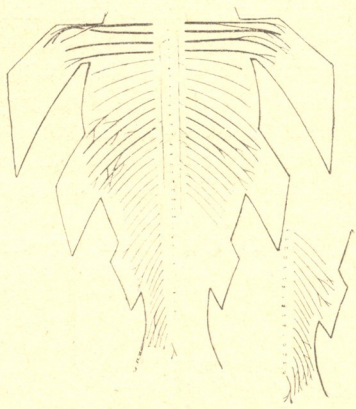


Рис. 3. Спинальные нервы саза-  
на—вентральная поверхность

Два первых нерва, соединяясь друг с другом, образуют толстый ствол плечевого сплетения, к которому у основания плавника присоединяется 3-й нерв. В плавнике ствол делится на вентральную и дорсальную ветви, иннервирующие мышцы и кожу вентральной и дорсальной поверхности конечности.

Межреберные нервы (4—13) связей не образуют. Следующие пять пар (14—18-й) иннервируют брюшной плавник, и, хотя между ними существуют единичные связи, сплетения брюшного плавника они не образуют.

Анальный плавник иннервируют 4 нерва (23—26), между которыми также наблюдаются связи. Следующие 3 пары нервов (27—29) располагаются перед хвостовым сплетением и связей друг с другом не устанавливают. У последних пяти пар нервов (30—34), иннервирующих хвост, помимо заметно выраженного утолщения, усложняются связи, благодаря чему хвостовое сплетение приобретает некоторое сходство с поясничным сплетением позвоночных, стоящих на более высокой ступени развития.

Сазан [*Cyprinus carpio* L.]. Нами были изучены спинные нервы на двух объектах сазана и одном экземпляре зеркального карпа, являющегося культурно выведенной породой этого вида.

Сазан — обитатель медленно текущих рек, а также озер, но распространен и в морях. Взрослый сазан в основном питается бентическими беспозвоночными, но в сильно заросших озерах в значительном количестве потребляет в пищу и растительные объекты. При брачных играх высоко выпрыгивают из воды. Длина его достигает 1 м [2].

У сазана 35, а у зеркального карпа 32 пары спинномозговых нервов. Вентральные ветви 4-х нервов сазана (рис. 3) и первых 3-х нервов зеркального карпа (рис. 4) разветвляются в мускулатуре и коже головного плавника. Эти нервы значительно толще следующих за ними межреберных нервов. У обоих видов связи между собой устанавливают лишь вентральные ветви двух первых нервов, 3 и 4-й, хотя и разветвляются в мускулатуре головного плавника, но связей не образуют. Поэтому нельзя говорить об их участии в формировании плечевого сплетения.

Связь между первым и вторым спинальными нервами устанавливается на некотором расстоянии от места выхода из межпозвоночного отверстия в пределах плавника.

Ветви для иннервации конечности образуются как путем разветвления двух первых нервов, так и разделением ствола, образованного соединением первого и второго нервов.

Большинство ветвей от двух первых спинальных нервов иннервируют вентральный отдел плавника и лишь небольшое количество ветвей достигает разгибателей. Иннервация грудного плавника зеркального карпа осуществляется ветвями трех первых спинальных нервов: первый делится на две одинаковой толщины ветви — вентральную, иннервирующую сгибатели, и ветвь, сливающуюся со 2-м нервом. Последний целиком направляется к дорсальной части конечности (рис. 3).

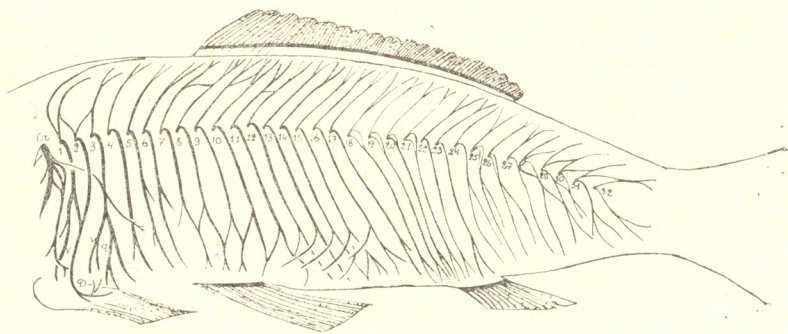


Рис. 4. Спинальные нервы зеркального карпа — левая сторона

У карпа 3 и 4-й нервы такой же толщины, как и первые два, и связей между собой они не имеют.

У сазана 5, 6 и 7-й, а у карпа 4, 5 и 6-й нервы значительно тоньше предлежащих; располагаются они в межреберных промежутках, между головным и брюшным плавниками, и пучками между собой не обмениваются.

У сазана незначительно утолщаются нервы брюшного плавника с 8-го по 13-й (у карпа с 7-го по 12-й). Между 8 и 9-м нервами сазана в одном случае была отмечена связь; у карпа связи наблюдались меж-

ду всеми нервами плавника, благодаря чему формировалось сплетение брюшного плавника.

Из морфологических особенностей нервов, расположенных между брюшными и анальными плавниками, помимо очень слабо выраженного их утолщения, следует указать на существование так называемых зон перекрытий — распространение ветвей на ближайшие к брюшному плавнику краниальные сегменты.

Нервы анального плавника, а также нервы, расположенные позади них, связей и утолщений не образуют. Последние спинальные нервы вновь утолщаются и образуют вентральные и дорсальные хвостовые сплетения.

Дорсальные ветви спинальных нервов с 6-го по 24-й иннервируют спинной плавник.

В заключение следует указать, что в первую очередь бросаются в глаза утолщения нервов, иннервирующих плавники, в особенности нервов грудного плавника и хвоста. Второй их важной особенностью является образование связей, вследствие чего формируются сплетения, нервы которых содержат пучки нескольких сегментов.

Очевидно, появлению нервных связей предшествует тенденция нервов распространяться на соседние сегменты. В результате в ближайших к плавнику отделах нередко наблюдается так называемая двойная или перекрестная иннервация.

Строение периферической нервной системы исследованных рыб характеризуется двусторонней симметрией.

## ЛИТЕРАТУРА

1. Абашидзе В. С. К сравнительной анатомии спинномозговых нервных сплетений и симпатических стволов позвоночных, «Мешниереба», Тбилиси, 1963.
2. Никольский Г. В. Частная ихтиология, «Наука», М., 1950.
3. Chandu M. J. Zool. Soc. India, 7, 1—12, 1955.
4. Gupta O. Anat. Anz., Bd. 131, 39—50, 1972.
5. Herrick C. J. Comp. Neurol., 8, 162—170, 1898.
6. van der Horst C. Handbuch der vergleichenden Anatomie der Wirbeltiere, Bd. II, 1, Hälfte (S. 533), Berlin, 1934.
7. Johnston J. B. Trans. Proc. Roy. Soc. N. Z., 68 (1), 47—48, 1938.
8. Young J. Z. Quart. J. Micr. Sci., 74 (3), 491—536, 1931.

## თევზის სპინალური ნერვების აგებულება

ე. აბაშიძე

თბილისის სახელმწიფო სამედიცინო ინსტიტუტი

რეზიუმე

ანატომიურად შესწავლილ იქნა კარპისებრთა ოჯახის (ძვლოვანი თევზი) სამი წარმომადგენლის სპინალური ნერვები. გამოკვლეულ თევზთა ნერვების აგებულებაში გამოქვეყნებული დიდი მსგავსება უნდა აიხსნას გენეტიკური სიახლოვით და ცხოვრების მსგავსი ნიროთ. ამავე დროს აღინიშნა გულმკერდის ფარფლისა და კუდის ინერვაციის საინტერესო თავისებურებანი (ნერვების გამსხვილება და მათ შორის კავშირების გართულება).

# ON THE STRUCTURE OF SPINAL NERVES OF FISH



V. S. ABASHIDZE

State Medical Institute, Tbilisi, USSR

## S u m m a r y

The spinal nerves of three genetically close bony fish belonging to the family of Carps have been studied. The structure of spinal nerves of the fish is, on the whole, of the same type. This might have been expected taking into account their genetical closeness and similarity of their manner of life. At the same time some remarkable features in the nerve constructions of the dorsal and thoracic fins have been found.

УДК 581.3.351

ЦИТОЛОГИЯ

## К ВОПРОСУ О ФУНКЦИЯХ СИНЕРГИД

(ДАННЫЕ ЭЛЕКТРОННОЙ МИКРОСКОПИИ)

Л. П. Жгенти

*Институт ботаники АН ГССР, Тбилиси*

Поступила в редакцию 24.09.1980

В работе рассмотрены результаты электронномикроскопического исследования синергид зрелого зародышевого мешка стерильной формы кукурузы Вир 44 молдавской.

Описаны различия в структуре базальной и апикальной частей синергид, выявлены особенности строения оболочек синергид, их неоднородность на разных участках клеток, в частности прерывистый характер плазмолеммы в апикальной их части.

Высказывается предположение о том, что описываемая характерная для синергид ультраструктура, возможно, является выражением их главного назначения — трофической функции.

Существующие исследования по проникновению пыльцевой трубки в зародышевый мешок через одну синергиду стали основой предположения о значительной роли синергид в направленном движении пыльцевой трубки к женскому гаметофиту. Однако трудно объяснимы факты обязательного наличия двух синергид почти у всех покрытосеменных, а также множество случаев внедрения пыльцевой трубки в зародышевый мешок независимо от синергид.

Изучение ультраструктуры яйцевого аппарата одной из форм стерильной кукурузы Вир 44 молдавской позволяет допустить несколько иное предположение о функциях синергид.

Для электронномикроскопического исследования семяпочки кукурузы Вир 44 молдавской фиксировали 3%-ным раствором глутаральдегида (на 4—6 ч), затем 1%-ным раствором четырехоксида осмия (на ночь). Покровные слои семяпочек довольно толстые и грубые, что значительно ухудшает проникновение фиксатора в зародышевый мешок. Для улучшения проницаемости перед фиксацией семяпочки по возможности освобождали от покровных тканей. Фиксацию проводили на холоду, в холодильнике при температуре 4°C. Материал обезвоживали в спиртах восходящей концентрации, в 70° спирте с уранилацетатом выдерживали ночь (в 70° спирте растворяли 1% уранилацетат). Материал заключали в эпон, аралдит и в смесь эпона и аралдита. Ультратонкие срезы, приготовленные на ультратоме ЛКВ, контрастировали уранилацетатом и цитратом свинца. Исследование проводили с помощью электронного микроскопа Tesla-613.

Значительную часть зрелого зародышевого мешка кукурузы Вир 44 молдавской занимают хорошо развитые синергиды.

Электронномикроскопическое изучение показало, что структура обеих синергид на этой стадии развития зародышевого мешка в ос-

новном идентична, небольшая разница отмечается лишь в размерах органонидов: одна синергида содержит относительно крупные митохондрии и пузырьки по сравнению с другой.

Однако в пределах каждой синергиды разные участки резко различаются по ультраструктуре: выявляется полярность — по расположению клеточных органонидов, и тем самым, вероятно, и функционально.

Базальная часть синергиды отличается содержанием в большом количестве мембранных компонентов. Из них особенно обильно при-

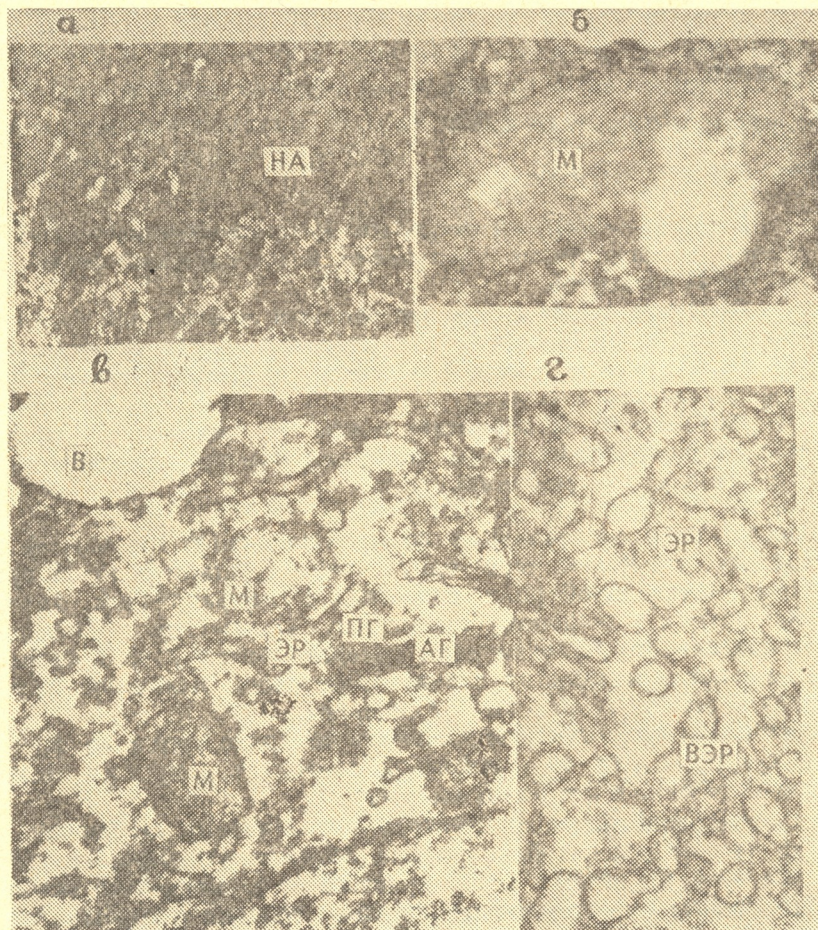


Рис. 1. а — Нитчатый аппарат в базальной части синергиды ( $\times 7000$ ); б — митохондрия, выделяющая пузырек ( $\times 46000$ ); в, г — профили эндоплазматического ретикулума ( $\times 32000$ ,  $28000$ ); НА — нитчатый аппарат, М — митохондрия, ЭР — эндоплазматический ретикулум, ВЭР — вакуоли эндоплазматического ретикулума, АГ — аппарат Гольджи, ПГ — пузырьки Гольджи, В — вакуоль

сутствуют митохондрии и аппарат Гольджи, которые в основном собраны в зоне нитчатого аппарата.

Нитчатый аппарат очень мощный, целиком заполняет микропилярную часть зародышевого мешка и одевает базальные концы синергид (рис. 1 а). Он состоит из белково-полисахаридных гранул, слипшихся

как бы в «сосульки». На электроннограммах хорошо отличимы эти, составляющие единую структуру, гранулы, но наблюдается и отдельное их расположение в цитоплазме. Иногда отмечается непрерывность нитчатого аппарата с содержимым стенки зародышевого мешка.

Эндоплазматическая сеть в базальной части синергид несколько своеобразна. В отличие от синергид незрелого зародышевого мешка, где эндоплазматическая сеть представлена хорошо развитыми длинными цистернами, значительная часть мембран которых покрыта рибосомами, в синергидах зрелого зародышевого мешка компоненты эндоплазматической сети имеют вид пузырьков и расширенных канальцев с незначительным числом рибосом. Очевидно, с созреванием зародышевого мешка эндоплазматическая сеть прекращает процессы синтеза, она распадается на мелкие профили, которые теряют прикрепленные к ним рибосомы и принимают вид каналов. Каналы затем расширяются и превращаются в вакуоли — в хранилища органических соединений (рис. 1 в, г). Диктиосомы Гольджи значительно редуцированы и их очертания можно видеть только при больших увеличениях микроскопа (рис. 1 в). Обилие пузырьков у аппарата Гольджи указывает на интенсивность секреции органических веществ, осуществляемой аппаратом. Структурную картину обогащает наличие липидных включений и лейкопластов, в которых откладывается крахмал.

Митохондрии мелкие, совершенно разные как по форме и другим морфологическим признакам, так и по функциональному состоянию, что позволяет проследить динамику деструкции этих органоидов. В частности, митохондрии, которые хорошо выделяются из цитоплазмы четкими оболочками, содержат многочисленные кристы и активно функционируют. Затем в них появляются электронно-прозрачные участки, кристы постепенно исчезают, теряется четкость оболочек и происходит выделение из них пузырьков с прозрачным содержимым (рис. 1 б). Иногда они совершенно теряют кристы и превращаются в светлые пузырьки, сохранившие двумембранные оболочки.

Структура цитоплазматических органоидов базальной части синергид отражает их активнофункциональное состояние, выражающееся в основном в создании органического запаса.

В центральной и особенно апикальной части синергид количество митохондрий, аппарата Гольджи и лейкопластов резко уменьшается. Мелкие пузырьки объединяются в крупные вакуоли, число которых продолжает возрастать. И уже самые нижние, ориентированные в сторону зародышевого мешка, участки клеток представлены сплошными вакуолями, между которыми расположены липидные капли (рис. 2 в).

Очень своеобразна клеточная оболочка синергид. Она хорошо развита и окаймляет синергиды со всех сторон, кроме апикальной (рис. 2 б). В апикальном же участке синергиды ограничены только лишь плазматической мембраной без дополнительной стенки (рис. 2 в). На электроннограммах наблюдались контакты вакуолей с внутренним слоем плазмолеммы и проникновение их через эту мембрану путем экзоцитоза. Отсутствие клеточной стенки на плазмолемме в апикальной части синергид, вероятно, связано с функциональной ее особенностью — с экстружией секреторных вакуолей из синергид в полость зародышевого мешка.

Изучение ультраструктуры синергид дает нам основание предположить, что базальные части синергид, насыщенные органоидами, вероятно, служат созданию органического материала для питания яйцеклетки, а апикальные участки выполняют транспортную функцию — обеспечивают перенесение этих веществ в полость зародышевого мешка через прерывистую плазмолемму.

Исследования ультраструктуры синергид различных цветковых растений создали определенные предположения о роли этих клеток в жизни зародышевого мешка. Самой признанной функцией синергид является секреция хемотропно-активных веществ, направляющих рост пыльцевой трубки к полости зародышевого мешка [2, 3, 6, 8, 9]. По

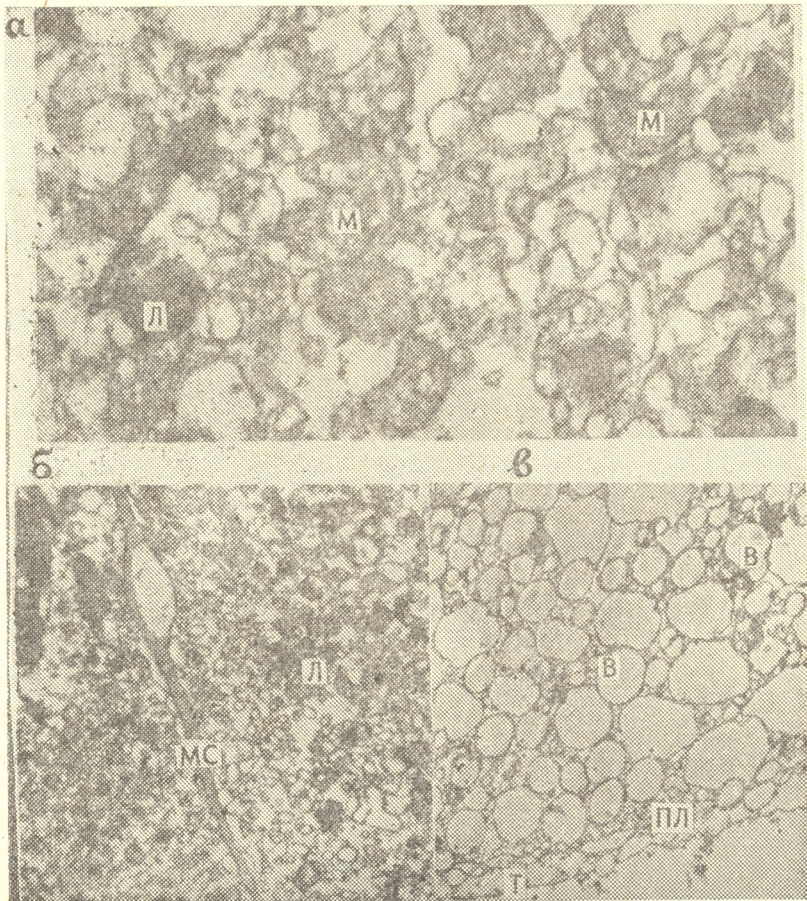


Рис. 2. а—Группа митохондрий в базальной части синергиды ( $\times 28\ 000$ ); б—межклеточная стенка пограничных синергид ( $\times 7000$ ); в—апикальная часть синергиды с плазмолеммой ( $\times 7000$ ); Л—липидные капли, МС—межклеточная стенка, ПЛ—плазмолемма, Т—тонопласт

мнению Дженсена [8] накануне вхождения пыльцевой трубки в зародышевый мешок одна из синергид — в которую проникает пыльцевая трубка — начинает дегенерировать, что и способствует освобождению из ее вакуолей ионов кальция, который, по мнению автора, возможно, и является хемотропно-активным веществом. Того же мнения придерживается М. А. Плиско [2].

Своеобразие строения оболочки в апикальной части синергиды также используется для подтверждения участия этой клетки в направленном движении пыльцевой трубки, а именно: голая плазмолемма должна способствовать беспрепятственному прохождению спермиев в полость зародышевого мешка [1].



Однако, с другой стороны, наличие прерывистости плазмолеммы обеих синергид (а не у одной, через которую проходит пыльцевая трубка), создание и транспортирование ими органических веществ в полость зародышевого мешка, а также частота вставания пыльцевой трубки в зародышевый мешок вне синергид дают нам основание высказать несколько иное предположение о функциях синергид.

В частности, мы считаем, что притяжение синергидами пыльцевых трубок, возможно, и имеет место, однако эта функция не везде одинаково выражена и, видимо, имеет далеко не первостепенное значение. Основной же функцией синергид, вероятно, является трофическая роль, необходимая для оплодотворения яйцеклетки и развития зародыша с момента оплодотворения на ранних этапах его формирования.

Возможное участие синергид в питании яйцеклетки, а также центральной клетки отмечают и другие исследователи [4, 5, 7, 10]. Но в этих случаях синергиды рассмотрены только как передаточные клетки — адсорбирующие и транспортирующие метаболиты в зародышевый мешок с помощью нитчатого аппарата. А это, как нам кажется, является упрощением трактовки назначения синергид.

#### ლიტერატურა

1. Коробова С. Н. Бот. журн., 62, 11, 1585—1599, 1977.
2. Плиско М. А. Бот. журн., 62, 11, 1612—1619, 1977.
3. Jalouzet M. F. C. R. Acad. Sci., Paris, 281, 18, 1—8, 1975.
4. Jensen W. A. Amer. J. Bot., 53, 3, 238—256, 1965 a.
5. Jensen W. A. J. Ultrastruct. Res., 13, 1—2, 112—128, 1965 b.
6. Jensen W. A. Bioscience, 23, 11, 636—639, 1973.
7. Mogensen H. L. Amer. J. Bot., 59, 9, 736—742, 1972.
8. Newcomb W. Canad. J. Bot., 51, 5, 144—147, 1973.
9. Vijayaraghavan M. R., Jensen W. A., Ashton M. E. Phytomorphology, 22, 2, 492—495, 1972.
10. Went I. L. Acta Bot. Neerl., 19, 2, 237—241, 1970.

#### საკითხი სინერგიდების ფუნქციების შესახებ (ულტრასტრუქტურული მონაცემები)

ლ. შლენტი

საქართველოს სსრ მეცნიერებათა აკადემიის ბოტანიკის ინსტიტუტი,  
თბილისი

რ ე ზ ი უ მ ე

შესწავლილ იქნა სიმინდის სტერილური ფორმის ვირ 44 მოლდავურის მომწიფებელი ჩანასახის პარკის სინერგიდების ულტრასტრუქტურა.

აღწერილია სინერგიდების ბაზალური და აპიკალური ნაწილების სტრუქტურული განსხვავება, რაც ამ ნაწილების ფუნქციურ დიფერენცირებასთან უნდა იყოს დაკავშირებული. გამოვლენილია უჯრედული გარსის აგებულების თავისებურება სინერგიდის სხვადასხვა უბანზე. კერძოდ, უჯრედის გარსი მკვირვ შრედ აკრავს სინერგიდებს ყოველი მხრიდან, აპიკალური ნაწილის

გარდა, აპიკალური-კვერცხურედისაკენ მიმართულ ნაწილში კი იგი თხელი წყვეტილი პლაზმოლემის სახითაა წარმოდგენილი.

სინერგიდების ყველაზე აღიარებულ ფუნქციად, ლიტერატურული მონაცემების მიხედვით, ითვლება მათი მონაწილეობა მტერის მილის მიზიდვაში ჩანასახის პარკისაკენ. მაგრამ სინერგიდების, ჩვენს მიერ აღწერილი, ულტრასტრუქტურული თავისებურებანი, როგორცაა, წყვეტილი პლაზმოლების არსებობა ორივე სინერგიდაში და არა მხოლოდ ერთში (რომლის გავლითაც მტერის მილი შედის ჩანასახის პარკში), ორივე სინერგიდის ულტრასტრუქტურების მსგავსება და აგრეთვე მტერის მილის ჩანასახის პარკში სინერგიდებისაგან დამოუკიდებლად შესვლის მრავალი შემთხვევა გვაფიქრებინებს, რომ სინერგიდების ძირითად დანიშნულებას ტროფიკული ფუნქცია უნდა წარმოადგენდეს. კერძოდ, თითოეული სინერგიდის ბაზალური ნაწილი უნდა ემსახურებოდეს კვერცხურედის კვებისათვის საჭირო ორგანული სამარაგო ნივთიერებების სინთეზს, აპიკალური კი — ამ ნივთიერებათა ტრანსპორტირებას კვერცხურედისაკენ ადვილად განვლადი, წყვეტილი პლაზმოლემის გავლით.

## ON THE FUNCTION OF SYNERGIDS (the ultrastructural data)

L. ZHENTI

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

### S u m m a r y

The results of an electron microscopic study of synergids of the mature embryo sac in the sterile form of *mays. Vir—44* Mold. are considered.

The distinction in the structure of the basal and apical parts of synergids is described. The particularity in the structure of synergid membrane, dissimilarity of different sections of cells, and in particular, the interrupted character of the plasmalemma in the apical part of the synergids are revealed.

It is suggested that the described ultrastructure characteristic of synergids may be the manifestation of their basic role, i. e. the trophic function.

УДК 577.153.35

БИОХИМИЯ

## ЭФФЕКТ ДОФАМИНА НА $\text{Na}^+$ , $\text{K}^+$ -АТФазную СИСТЕМУ ГОЛОВНОГО МОЗГА КРЫС

М. З. Джапаридзе, Т. Я. Джариашвили, Л. Г. Цакадзе,  
З. П. Кометиани

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

Поступила в редакцию 10.11.1980

Исследовали влияние дофамина на  $\text{Na}^+$ ,  $\text{K}^+$ -АТФазную активность субклеточных фракций головного мозга крыс. Дофамин не изменял  $\text{Na}^+$   $\text{K}^+$ -АТФазную активность микросом, обработанных  $\text{NaI}$ , однако тормозил  $\text{Na}^+$ ,  $\text{K}^+$ -АТФазу фракции синаптических мембран. Установлена специфичность эффекта дофамина по отношению к  $\text{Na}^+$ ,  $\text{K}^+$ -АТФазе, локализованной в синаптосомальной фракции, полученной из участков мозга, богатых дофаминэргическими окончаниями. Полученные результаты свидетельствуют в пользу функциональной значимости эффекта дофамина на  $\text{Na}^+$ ,  $\text{K}^+$ -АТФазную активность синаптических мембран.

Согласно ранее проведенным исследованиям, характерный для возбудимых мембран эффект нейротрансмиттеров на  $\text{Na}^+$ ,  $\text{K}^+$ -АТФазную активность особенно ярко проявляется во фракции синаптических мембран головного мозга и, в зависимости от субсинаптической фракции и концентраций нейротрансмиттеров, имеет различный характер [1, 2, 4].

В свете этих данных казалось интересным выяснить, подчиняется ли дофамин, с точки зрения воздействия его на  $\text{Na}^+$ ,  $\text{K}^+$ -АТФазную систему, тем же закономерностям, что и ряд изученных ранее нейротрансмиттеров. Наряду с этим ставилась задача разрешения вопроса специфичности эффекта дофамина по отношению к  $\text{Na}^+$ ,  $\text{K}^+$ -АТФазе синаптических мембран дофаминэргических нейронов.

### МЕТОДИКА

Субклеточные фракции головного мозга крыс получали по методу Де Робертиса [6] и Уиттакера [8]. Осадок после осмотического шока грубой митохондриальной фракции, содержащей мембраны синаптосом, обозначен в тексте через  $\text{P}_2\text{Wp}$ . В скобках указаны концентрации сахарозы в слоях, между которыми собирали частицы данной фракции. Активность  $\text{Na}^+$ ,  $\text{K}^+$ -АТФазы определяли как оубаинчувствительную часть суммарной АТФазы. Оубаиннечувствительную часть принимали за  $\text{Mg}$ -АТФазную активность. Во всех опытах инкубацию ферментного препарата проводили в среде, содержащей 120 мМ  $\text{NaCl}$ , 20 мМ  $\text{KCl}$ , 3 мМ  $\text{MgCl}_2$ , 40 мМ трис- $\text{HCl}$  буфера, при различных концентрациях дофамина. Инкубацию начинали добавлением АТФ (3 мМ)

и прекращали трихлоруксусной кислотой (конечная концентрация — 4%) при одновременном охлаждении до 3—4°C. Соблюдалась линейная зависимость активности от количества белка и от времени инкубации. Количество распавшегося АТФ не превышало 10% его начальной величины. В конечном объеме проб (2,5 мл) содержание белка составляло 20—70 мкг. Белок определяли по Лоури, неорганический фосфат — по методу Фиске-Суббароу. Данные представлены в процентах (активность в отсутствие дофамина принята за 100%) и обработаны статистически с использованием законов распределения средней ошибки для малых выборок. Графики отражают лишь те отклонения от 100%-ной активности, которые характеризовались значениями  $P < 0,02$ .

## РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

Опытами было показано, что дофамин в пределах концентраций 0,005—1,0 мМ не воздействует на  $\text{Na}^+$ ,  $\text{K}^+$ -АТФазную активность обработанной  $\text{NaI}$  микросомальной фракции, полученной из целого мозга (табл. 1). Между тем,  $\text{Na}^+$ ,  $\text{K}^+$ -АТФаза субсинаптической фракции

Таблица 1

Эффект глутаминовой кислоты и дофамина на  $\text{Na}^+$ ,  $\text{K}^+$ -АТФазную активность\*

Фракция	$P_2W_p$ (1,1—0,9)		Микросомы, обработанные $\text{NaI}$	
	с глутаминовой кислотой		с дофамином	
Добавляемое вещество, мМ				
0	100 ± 2.61		100 ± 11.19	
0.001	101.96 ± 2.69	$P > 0.1$	100.98 ± 10.09	$P > 0.1$
0.01	103.91 ± 3.33	$P > 0.1$	110.22 ± 8.96	$P > 0.1$
0.1	103.70 ± 2.46	$P > 0.1$	95.48 ± 8.12	$P > 0.1$
0.5	102.61 ± 2.62	$P > 0.1$	91.16 ± 9.65	$P > 0.1$
1.0	105.65 ± 3.18	$P > 0.1$	82.32 ± 8.70	$0.05 < P < 0.1$

\* Здесь и в табл. 2 активность выражена в процентах

$P_2W_p$  (1,1—0,9), также выделенной из целого мозга, подвергается ингибирующему воздействию нейротрансмиттера с максимальной степенью торможения 51% при 1 мМ вещества (рис. 1). ЭГТА в концентрации 0,4 мМ, также как и в случае ряда других нейротрансмиттеров [2], полностью снимает эффект малых концентраций дофамина (0,005—0,1 мМ) и несколько уменьшает тормозящее воздействие высоких концентраций (0,5—1,0 мМ). Характерно, что значительной глубины эффект в отсутствие ЭГТА достигает уже при самых низких концентрациях нейротрансмиттера. Здесь же необходимо упомянуть опыты, проведенные с целью изучения влияния глутаминовой кислоты (расцениваемой в настоящее время как основной возбуждающий нейротрансмиттер в ЦНС) на  $\text{Na}^+$ ,  $\text{K}^+$ -АТФазу синаптических мембран. Как видно из табл. 1, в пределах концентраций 0,001 — 1,0 мМ глутаминовая кислота, в отличие от дофамина, не вызвала достоверных отклонений от 100%-ной  $\text{Na}^+$ ,  $\text{K}^+$ -АТФазной активности во фракции синаптических мембран  $P_2W_p$  (1,1 — 0,9).

Проведены были также опыты по изучению влияния дофамина на  $\text{Na}^+$ ,  $\text{K}^+$ -АТФазную активность субсинаптической фракции  $\text{P}_2\text{W}_p(1,1-0,9)$  из отдельных участков головного мозга. В качестве источника для получения ферментного препарата послужили участки, богатые дофаминэргическими окончаниями [5], мозжечок и вся остальная часть мозга (условно части А, Б, В). Наибольшей глубины эффект достигает в случае  $\text{Na}^+$ ,  $\text{K}^+$ -АТФазы синаптических мембран, выделенных

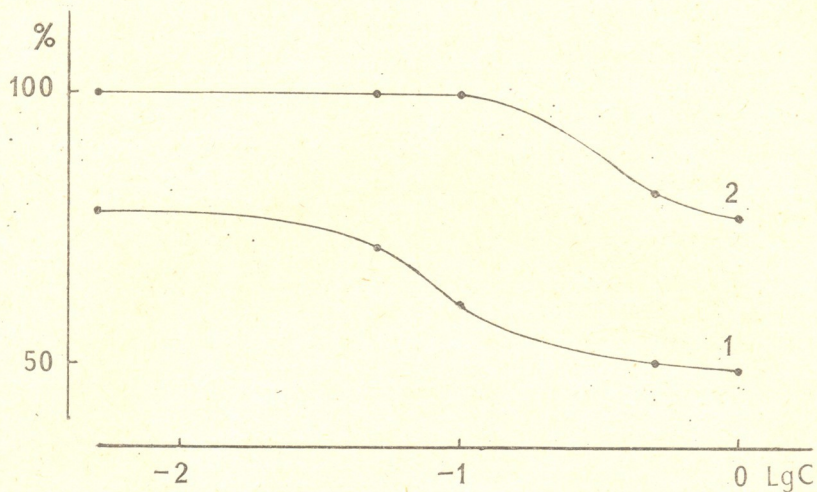


Рис. 1. Зависимость  $\text{Na}^+$ ,  $\text{K}^+$ -АТФазной активности фракции  $\text{P}_2\text{W}_p(1,1-0,9)$ , выделенной из целого мозга, от дофамина: 1—ЭГТА=0; 2 — +0,4 мМ ЭГТА

из части А. Уже при концентрации 0,001 мМ дофамин понижает активность на 15%, далее, при концентрации 0,1 мМ, ингибирующий эффект достигает 25% (рис. 2). Что касается  $\text{Na}^+$ ,  $\text{K}^+$ -АТФазы синаптических мембран частей Б и В, то достоверное торможение наблюдается лишь

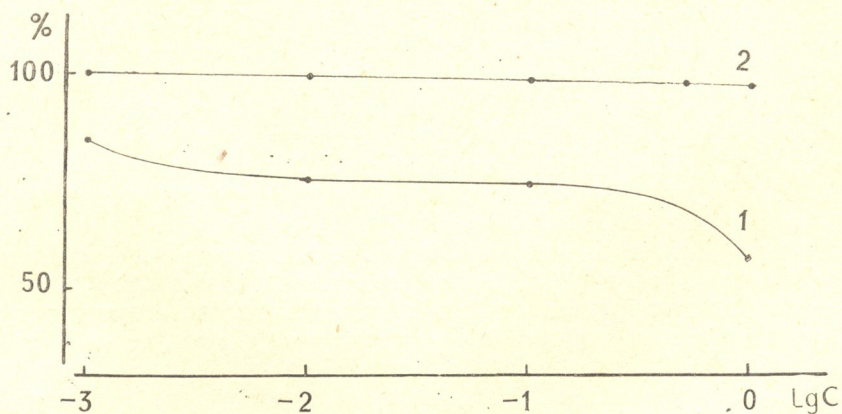


Рис. 2. Зависимость  $\text{Na}^+$ ,  $\text{K}^+$ -АТФазной активности фракции  $\text{P}_2\text{W}_p(1,1-0,9)$ , выделенной из участков мозга, богатых дофаминэргическими окончаниями, от дофамина: 1—ЭГТА=0; 2 — +0,4 мМ ЭГТА

при воздействии 1 мМ дофамина (табл. 2). ЭГТА во всех случаях полностью снимает эффект (рис. 2 и табл. 2).

Эффект дофамина на  $\text{Na}^+$ ,  $\text{K}^+$ -АТФазную активность фракции  $\text{P}_2\text{W}_p(1,1-0,9)$ 

Дофамин, мМ	Источник ферментного препарата			
	Часть Б		Часть В	
	без ЭГТА	с ЭГТА	без ЭГТА	с ЭГТА
0	100,00±7,24	100,00±5,54	100,00±4,76	100,00±3,05
0,001	110,58±9,77 $P>0,1$	100,04±5,96 $P>0,1$	94,09±4,90 $P>0,1$	103,24±4,82 $P>0,1$
0,01	108,03±5,94 $P>0,1$	110,61±4,74 $0,05<P<0,01$	97,04±4,27 $P>0,1$	104,35±3,36 $P>0,1$
0,1	100,02±8,09 $P>0,1$	109,40±4,24 $0,05<P<0,1$	102,15±5,25 $P>0,1$	113,18±4,56 $0,02<P<0,05$
0,5	68,37±11,04 $0,02<P<0,05$	98,48±6,57 $P>0,1$	90,86±5,33 $P>0,1$	105,40±3,51 $P>0,1$
1,0	79,23±5,35 $0,001<P<0,002$	89,39±5,72 $P>0,1$	75,00±3,88 $0,001<P<0,002$	94,13±3,01 $0,05<P<0,1$

Полученные результаты указывают на строгую избирательность эффекта дофамина по отношению к синаптическим мембранам: эффект малых концентраций, имеющих функциональное значение, наблюдается лишь во фракции, источником которой служили участки мозга, богатые дофаминэргическими окончаниями. Следовательно, дофамин воздействует на  $\text{Na}^+$ ,  $\text{K}^+$ -АТФазу, локализованную в мембранах в непосредственной близости от места высвобождения дофамина, *in vivo* во время передачи возбуждения с дофаминэргического нейрона на постсинаптическую мембрану.

Таким образом, дофамин полностью подчиняется общим закономерностям воздействия нейротрансмиттеров на  $\text{N}^+$ ,  $\text{K}^+$ -АТФазную систему:  $\text{Na}^+$ ,  $\text{K}^+$ -АТФаза фракции микросом, обработанных  $\text{NaI}$ , состоящей в основном из обрывков протоплазматических мембран и эндоплазматической сети, нечувствительна к дофамину, тогда как  $\text{Na}^+$ ,  $\text{K}^+$ -АТФаза синаптических мембран, характеризующихся высоким содержанием соединительных комплексов, подвергается сильному ингибирующему влиянию дофамина. Последнее обстоятельство, свидетельствующее в пользу связи эффекта с процессами химической синаптической передачи, приобретает особую значимость в свете данных о специфичности эффекта дофамина по отношению к  $\text{Na}^+$ ,  $\text{K}^+$ -АТФазе синаптических мембран из участков мозга, богатых дофаминэргическими окончаниями. Полученные нами данные, безусловно, говорят в пользу функциональной значимости эффекта нейротрансмиттеров в отношении тех синаптических процессов, которые протекают между дофаминэргическим нейроном и постсинаптической мембраной.

К дофамину с полным основанием можно отнести заключение о непричастности цАМФ зависимых процессов к эффекту нейротрансмиттеров на  $\text{Na}^+$ ,  $\text{K}^+$ -АТФазную систему. Как известно, по Грингарду [7] участие цАМФ в эффекте нейротрансмиттеров на  $\text{N}^+$ ,  $\text{K}^+$ -АТФазную систему включает следующую последовательность реакций: ней-



ротрансмиттер через соответствующий рецептор активирует аденилциклазу; образовавшийся цАМФ активирует протеинкиназу, которая, со своей стороны, фосфорилирует мембранные белки; последние влияют на  $\text{Na}^+$ ,  $\text{K}^+$ -АТФазную активность. В случае правомерности этой схемы активность чувствительной к нейротрансмиттерам  $\text{Na}^+$ ,  $\text{K}^+$ -АТФазы должна изменяться под воздействием цАМФ. Между тем опытами продемонстрировано обратное: цАМФ не вносил достоверных изменений в активность  $\text{Na}^+$ ,  $\text{K}^+$ -АТФазы синаптических мембран.

Упомянутым экспериментальным фактом и рядом других данных [3] исключается вероятность участия цАМФ зависимых процессов в эффекте нейротрансмиттеров на  $\text{N}^+$ ,  $\text{K}^+$ -АТФазную систему.

#### ЛИТЕРАТУРА

1. Джаришвили Т. Я., Кометиани З. П. Изв. АН ГССР, сер. биол., I, 5, 504—507, 1975.
2. Кометиани З. П., Джаришвили Т. Я., Цакадзе Л. Г. Биохимия, 40, 1039—1046, 1975.
3. Кометиани З. П., Джаришвили Т. Я., Цакадзе Л. Г., Микеладзе Д. Г. Изв. АН ГССР, сер. биол., 3, 4, 444—450, 1977.
4. Кометиани З. П. Всес. конф. по нейрохимии, Тбилиси, 1970, 413—424.
5. Узбеков М. Г., Пигарева З. Д. В сб.: Катехоламинэргические нейроны, «Наука», М., 1979, 56—66.
6. De Robertis E. Handbook of Neurochemistry (A. Lajtha), Plenum Press, N. Y.-L., 1969, 365—380.
7. Greengard P. Nature, 260, 101—108, 1976.
8. Whittaker V. P. Handbook of Neurochemistry (A. Lajtha), Plenum Press, N. Y.-L., 1969, 327—364.

#### დოფამინის ეფექტი ვირთაგვას თავის ტვინის $\text{Na, K}$ -ატფაზურ სისტემაზე

მ. ჯაფარიძე, თ. ჯარიშვილი, ლ. წაბაძე, ზ. კომეტიანი

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

#### რეზიუმე

შესწავლილ იქნა დოფამინის ეფექტი ვირთაგვას თავის ტვინის სუბუჯრედული ფრაქციების  $\text{Na, K}$ -ატფაზურ სისტემაზე. დოფამინი არ მოქმედებდა  $\text{NaI}$ -ით დამუშავებული მიკროსომული ფრაქციის  $\text{Na, K}$ -ატფაზაზე, მაგრამ იწვევდა სინაპტოსომალური ფრაქციის  $\text{Na, K}$ -ატფაზური აქტივობის ინჰიბიციას. დადგენილ იქნა დოფამინის ეფექტის სპეციფიკურობა ტვინის დოფამინერგული დაბოლოებებით მდიდარი უბნებიდან მიღებული სინაპტოსომალური ფრაქციის  $\text{Na, K}$ -ატფაზის მიმართ. მიღებული შედეგები მიუთითებენ სინაპტური მემბრანების  $\text{Na, K}$ -ატფაზაზე დოფამინის ეფექტის ფუნქციურ მნიშვნელობასა და მის კავშირზე ქიმიური სინაფსური გადაცემის პროცესებთან.

THE EFFECT OF DCPAMINE ON THE RAT BRAIN  $\text{Na}^+$ ,  $\text{K}^+$ -ATPase SYSTEM



M. Z. JAPARIDZE, T. I. JARIASHVILI, L. G. TSAKADZE, Z. P. KOMETIANI

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

S u m m a r y

The effect of dopamine on the  $\text{Na}$ ,  $\text{K}$ -ATPase of the rat brain subcellular fractions was studied. Dopamine does not affect  $\text{Na}$ ,  $\text{K}$ -ATPase of  $\text{NaI}$ -treated microsomal fraction, but inhibits synaptic membrane  $\text{Na}$ ,  $\text{K}$ -ATPase. The effect is specific to the  $\text{Na}$ ,  $\text{K}$ -ATPase of synaptic membranes obtained from the brain areas enriched in dopaminergic endings. Our results point to the functional significance of the effect and its relation with the processes of the chemical synaptic transmission.



УДК 576.809.33

БИОХИМИЯ

## ПРИМЕНЕНИЕ МЕТОДОВ МАТЕМАТИЧЕСКОГО ПЛАНИРОВАНИЯ ЭКСПЕРИМЕНТА ДЛЯ ОПТИМИЗАЦИИ СРЕДЫ С ЦЕЛЮ ПОВЫШЕНИЯ УРОВНЯ БИОСИНТЕЗА КИСЛОТОСТАБИЛЬНОЙ $\alpha$ -АМИЛАЗЫ

М. Д. Павленишвили, Л. Л. Квачадзе

Институт биохимии растений АН ГССР, Тбилиси

Поступила в редакцию 20.10.1980

С помощью методов математического планирования эксперимента оптимизирована питательная среда для глубинного выращивания *Aspergillus niger* 147-А — продуцента кислотостабильной  $\alpha$ -амилазы. На среде, состоящей (в%) из: крахмала — 5,0; отрубей — 5,0;  $\text{NaNO}_3$  — 0,34;  $\text{KH}_2\text{PO}_4$  — 0,28 и  $\text{MgSO}_4$  — 0,05, достигнуто увеличение активности фермента в два раза по сравнению с исходным уровнем.

Кислотостабильная  $\alpha$ -амилаза обнаружена недавно в числе амилолитических ферментов, синтезируемых грибами рода *Aspergillus* [1—6]. Она полностью сохраняет активность при значительно более низких значениях рН (до 2), в то время как «обычная»  $\alpha$ -амилаза плесневых грибов при рН 2,5, 30 мин и 37°C полностью и необратимо теряет каталитическую способность.

Целью настоящей работы является усиление биосинтеза кислотостабильной  $\alpha$ -амилазы *Aspergillus niger* 147-А путем изменения концентрации составных компонентов среды, которая ранее была подобрана для глубинного культивирования *Aspergillus niger* 475 [2].

### МЕТОДИКА

В работе использовали культуру УФ-мутанта *Aspergillus niger* 147-А [2], которую выращивали глубинным способом в колбах Эрлейера (объем 750 мл), содержавших 150 мл среды, на качалке при 180 об/мин и 30°C в течение 72 ч. Активность  $\alpha$ -амилазы определяли колориметрическим методом Рухлядевой и Горячевой [3].

Исходной для оптимизации была среда следующего состава (в %):  $\text{KH}_2\text{PO}_4$  — 0,1;  $\text{MgSO}_4$  — 0,05;  $\text{NaNO}_3$  — 0,1; крахмал — 2; пшеничные отруби — 4, вода водопроводная. Подбор оптимального состава питательной среды осуществляли математическим методом крутого восхождения, представляющим собой сочетание метода факторного эксперимента и метода градиента [4]. Выбор матрицы планирования и расчеты производились в соответствии с указаниями, приведенными в литературе [4, 5]. Наилучший результат трактовался как приближающийся к оптимальному варианту среды.

С целью подбора оптимальной концентрации компонентов среды для культивирования *Aspergillus niger* 147-А вначале были взяты основные компоненты исходной среды (среда № 17, табл. 1). Варьировали 4 компонента, за исключением  $MgSO_4$  (0,05%). За исходный уровень ПФЭ-2<sup>4</sup> (полный факторный эксперимент) принимался следующий вариант среды (в%): крахмал—2; отруби—4;  $NaNO_3$ —0,1;  $KH_2PO_4$ —0,1. Интервалы варьирования  $\lambda_i$  были (в%): по крахмалу +1, по отрубям +1, по  $NaNO_3$ +0,05, по  $KH_2PO_4$ +0,05 (табл. 1).

Таблица 1

Матрица ПФЭ 2<sup>4</sup> и результаты опытов, поставленных по плану этой матрицы

$X_1$ крахмал		$X_2$ отруби		$X_3$		$X_4$		Активность фермента, ед/мл	Обозначение строк в матрице	Коэффициенты регрессии для кислотостаби- льной $\alpha$ -амилазы	
код	%	код	%	код	%	код	%	кислотостаби- льная $\alpha$ -амилаза			
—	1	—	3	—	0,05	—	0,05	$Y_1$	0,70	$X_0$	0,94
+	3	—	3	—	0,05	—	0,05	$Y_2$	1,00	$X_1$	0,24
—	1	+	5	—	0,05	—	0,05	$Y_3$	0,60	$X_2$	0,02
+	3	+	5	—	0,05	—	0,05	$Y_4$	1,30	$X_1 X_2$	0,04
—	1	—	3	+	0,15	—	0,05	$Y_5$	0,70	$X_3$	0,01
+	3	—	3	+	0,15	—	0,05	$Y_6$	1,20	$X_1 X_3$	0
—	1	+	5	+	0,15	—	0,05	$Y_7$	0,70	$X_2 X_3$	—0,01
+	3	+	5	+	0,15	—	0,05	$Y_8$	1,20	$X_1 X_2 X_3$	—0,01
—	1	—	3	—	0,05	+	0,15	$Y_9$	0,67	$X_4$	0,01
+	3	—	3	—	0,05	+	0,15	$Y_{10}$	1,15	$X_1 X_4$	0
—	1	+	5	—	0,05	+	0,15	$Y_{11}$	0,72	$X_2 X_4$	0
+	3	+	5	—	0,05	+	0,15	$Y_{12}$	1,25	$X_1 X_2 X_4$	—0,01
—	1	—	3	+	0,15	+	0,15	$Y_{13}$	0,76	$X_3 X_4$	0
+	3	—	3	+	0,15	+	0,15	$Y_{14}$	1,13	$X_1 X_3 X_4$	0
—	1	+	5	+	0,15	+	0,15	$Y_{15}$	0,70	$X_2 X_3 X_4$	0,01
+	3	+	5	+	0,15	+	0,15	$Y_{16}$	1,26	$X_1 X_2 X_3 X_4$	0,03
+	1	+	1	+	0,05	+	0,05	$Y_0$	0,80	$S\{b_i\}_{t_{95}}=0,11$	

При математической обработке результатов опыта получили коэффициент регрессии  $X_1$  фактора, который по абсолютной величине (0,24) превышал его дисперсию, помноженную на  $t$  фактор, равный 0,11 ( $S\{b_i\}t_{95}=0,11$ ). Положительный коэффициент  $b_1$ , который оказался значимым, свидетельствует о необходимости увеличения концентрации крахмала в среде.

После проведения ряда опытов по ПФЭ 2<sup>4</sup> мы, учитывая результаты, перешли к следующему этапу оптимизации среды — дробному факторному эксперименту (ДФЭ 2<sup>5-1</sup>).

За нулевой (0) уровень ДФЭ 2<sup>5-1</sup> был взят следующий состав среды (в%): крахмал—5; отруби—5;  $NaNO_3$ —0,2;  $KH_2PO_4$ —0,2;  $MgSO_4$ —0,05. Интервалы варьирования  $\lambda_i$  были (в%): по крахмалу  $\pm 1$ , по отрубям  $\pm 1$ , по  $NaNO_3$   $\pm 0,1$ , по  $KH_2PO_4$   $\pm 0,1$ , по  $MgSO_4$   $\pm 0,01$  (табл. 2). Результаты расчета коэффициента регрессии показали, что  $X_3$  фактор является положительно значимым и его концентрацию в среде нужно увеличить.

Расчетное уравнение регрессии, коэффициент которого рассчитывали по данным табл. 3, описывает процесс накопления  $\alpha$ -амилазы следующим образом:  $V=1,08+0,09x_{3,4}$ . Дисперсия производительности  $S^2\{\lambda_i\}=0,05$ . Дисперсия неадекватности  $Sag^2=0,004$  при числе степеней свободы  $f_1$ , равном 14. Критерий Фишера  $F=Sag^2(S^2\{\lambda_i\})=0,08$ .

Таблица 2

Матрица ДФЭ 2<sup>5-1</sup> и результаты опытов, поставленных по плану этой матрицы

X <sub>1</sub> крахмал		X <sub>2</sub> отруби		X <sub>3</sub> NaNO <sub>3</sub>		X <sub>4</sub> KH <sub>2</sub> PO <sub>4</sub>		X <sub>5</sub> MgSO <sub>4</sub>		Активность фермента, ед/мл		Обозначение строк в матрице	Коэффициенты регрессии для кислотостабильной $\alpha$ -амилазы
код	%	код	%	код	%	код	%	код	%	кислотостабильная $\alpha$ -амилаза			
—	4	—	4	—	0,1	—	0,1	+	0,06	Y <sub>1</sub>	0,06	X <sub>0</sub>	1,08
+	6	—	4	—	0,1	—	0,1	—	0,04	Y <sub>2</sub>	0,940	X <sub>1</sub>	—0,01
—	4	+	6	—	0,1	—	0,1	—	0,04	Y <sub>3</sub>	0,975	X <sub>2</sub>	0,03
+	6	+	6	—	0,1	—	0,1	+	0,06	Y <sub>4</sub>	0,970	X <sub>1</sub> X <sub>2</sub>	0,02
—	4	—	4	+	0,3	—	0,1	—	0,04	Y <sub>5</sub>	1,100	X <sub>3</sub>	0,09
+	6	—	4	+	0,3	—	0,1	+	0,06	Y <sub>6</sub>	0,900	X <sub>1</sub> X <sub>3</sub>	—0,02
—	4	+	6	+	0,3	—	0,1	+	0,06	Y <sub>7</sub>	1,300	X <sub>2</sub> X <sub>3</sub>	0,03
+	6	+	6	+	0,3	—	0,1	—	0,04	Y <sub>8</sub>	1,130	X <sub>1</sub> X <sub>2</sub> X <sub>3</sub>	0,02
—	4	—	4	—	0,1	+	0,3	—	0,04	Y <sub>9</sub>	0,130	X <sub>4</sub>	0,05
+	6	—	4	—	0,1	+	0,3	+	0,06	Y <sub>10</sub>	0,910	X <sub>1</sub> X <sub>4</sub>	0,01
—	4	+	6	—	0,1	+	0,3	+	0,06	Y <sub>11</sub>	0,940	X <sub>2</sub> X <sub>4</sub>	—0,02
+	6	+	6	—	0,1	+	0,3	—	0,04	Y <sub>12</sub>	1,107	X <sub>1</sub> X <sub>2</sub> X <sub>4</sub>	0,01
—	4	—	4	+	0,3	+	0,3	+	0,06	Y <sub>13</sub>	1,250	X <sub>3</sub> X <sub>4</sub>	0,02
+	6	—	4	+	0,3	+	0,3	—	0,04	Y <sub>14</sub>	1,200	X <sub>1</sub> X <sub>3</sub> X <sub>4</sub>	0,02
—	4	+	6	+	0,3	+	0,3	—	0,04	Y <sub>15</sub>	1,300	X <sub>2</sub> X <sub>3</sub> X <sub>4</sub>	0,01
+	6	+	6	+	0,3	+	0,3	+	0,06	Y <sub>16</sub>	1,300	X <sub>1</sub> X <sub>2</sub> X <sub>3</sub> X <sub>4</sub>	0,01
0	5	0	5	0	0,2	0	0,08	0	0,05	Y <sub>0</sub>	1,120		
+	1	+	1	+	0,1	+	0,1	+	0,01			S {bi} t <sub>95</sub> =0,05	

Табличное значение критерия Фишера  $F_{t_{95}}=3,0$  при  $f_1=14$  и  $f_2=9$ . Критерий Фишера  $F_t$  больше вычисленного, что указывает на адекватное описание системы приведенным уравнением [5].

На основе полученных результатов, методом математической обработки, определили направление градиента для движения к оптимуму [5]. За исходную точку крутого восхождения принимали нулевой уровень ДФЭ 2<sup>5-1</sup> (среда № 17).

Шаг восхождения Sib был для  $\text{NaNO}_3 + 0,035\%$ , а для  $\text{KH}_2\text{PO}_4 + 0,02\%$ . План поставки опыта и результаты приведены в табл. 3.

Таблица 3

Крутое восхождение по факторам $X_3$ ( $\text{NaNO}_3$ ) и $X_4$ ( $\text{KH}_2\text{PO}_4$ )					Активность (ед/мл) кислотостабильной $\alpha$ -амилазы
Ф а к т о р ы, %					
$X_1$ крахмал	$X_2$ отруби	$X_3$ $\text{NaNO}_3$	$X_4$ $\text{KH}_2\text{PO}_4$	$X_5$ $\text{MgSO}_4$	
5	5	0,2	0,2	0,05	1,564
5	5	0,235	0,22	0,05	1,360
5	5	0,270	0,24	0,05	1,420
5	5	0,305	0,26	0,05	1,476
5	5	0,340	0,28	0,05	1,592
5	5	0,375	0,30	0,05	1,501
5	5	0,410	0,32	0,05	1,420
5	5	0,445	0,34	0,05	1,482
5	5	0,480	0,36	0,05	1,504
5	5	0,515	0,38	0,05	1,476
5	5	0,550	0,40	0,05	1,332
5	5	0,585	0,42	0,05	1,420
5	5	0,620	0,44	0,05	1,388
5	5	0,655	0,46	0,05	1,332
5	5	0,690	0,48	0,05	1,300
5	5	0,725	0,51	0,05	1,335
		+0,035	+0,02		

Полученные результаты показывают, что активность кислотостабильной  $\alpha$ -амилазы практически одинакова во всех вариантах эксперимента. Очевидно, концентрации факторов лежат в оптимальной области, а среда № 5 дает лучший результат. При этих условиях активность фермента в 2 раза выше исходного уровня.

Таким образом, для биосинтеза кислотостабильной  $\alpha$ -амилазы была получена оптимальная питательная среда следующего состава (в %): крахмал — 5; отруби — 5;  $\text{NaNO}_3$  — 0,34;  $\text{KH}_2\text{PO}_4$  — 0,28;  $\text{MgSO}_4$  — 0,05.

#### ЛИТЕРАТУРА

1. Ермошина Г. К. Кислотоустойчивость и действие  $\alpha$ -амилаз аспергиллов. Автореф. канд. дисс., М., 1970.
2. Квеситадзе Г. И., Квачадзе Л. Л., Павленишвили М. Д., Алексидзе Т. И., Коридзе В. В. Штамм *Aspergillus niger* 147-A — продуцент кислотоустойчивой  $\alpha$ -амилазы и глюкоамилазы. Авт. свид. № 659617, Б. И., 1979, 4.
3. Рухляева Н. П., Горячева М. Г. Ферментная и спиртовая промышленность, 9, 36—41, 1969.
4. Налимов В. В., Чернова Н. А. Статистические методы планирования экстремальных экспериментов, «Наука», М., 1965.

5. Максимов В. Н., Федоров В. Д. В сб.: Применение методов математического планирования эксперимента при отыскании оптимальных условий культивирования микроорганизмов, Изд-во МГУ, М., 1969, 42—46.
6. Minoda Y., Amai M., Amada K. Agric. a. Biol. Chem., 33, 572—576, 1969.

მუშავებამდე  $\alpha$ -ამილაზის ბიოსინთეზის დონის ამაღლების მიზნით საკვები არის ოპტიმიზაცია ექსპერიმენტის დაგეგმვის მათემატიკური მეთოდების გამოყენებით

მ. ფავენიშვილი, ლ. კვაჩაძე

საქართველოს სსრ მეცნიერებათა აკადემიის მცენარეთა ბიოქიმიის ინსტიტუტი, თბილისი

### რ ე ზ ი უ მ ე

ექსპერიმენტის დაგეგმვის მათემატიკური მეთოდების გამოყენებით ოპტიმიზებულ იქნა საკვები არე მუშავებამდე  $\alpha$ -ამილაზის პროდუცენტის *Aspergillus niger* 147-A-ს სიღრმული კულტივირებისათვის მიღებულია შემდეგი შემადგენლობის არე (%): სახამებელი—5,0, ქაბო—5,0,  $\text{NaNO}_3$ —0,34,  $\text{KH}_2\text{PO}_4$ —0,28,  $\text{MgSO}_4$ —0,05. ამ საკვებ არეზე მიღწეულ იქნა მუშავებამდე  $\alpha$ -ამილაზის აქტივობის ორჯერადი გაზრდა საწყის დონესთან შედარებით.

## APPLICATION OF MATHEMATICAL METHODS OF EXPERIMENTAL PLANNING FOR THE OPTIMIZATION OF MEDIUM IN ORDER TO RAISE THE LEVEL OF BIOSYNTHESIS OF ACID-STABLE $\alpha$ -AMYLASE OF ASPERGILLUS NIGER 147-A

M. D. PAVLENISVILI, L. L. KVACHADZE

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

### S u m m a r y

With the help of mathematical methods of experimental planning the culture medium of *Aspergillus niger* 147-A has been optimized for deep cultivation. The medium with the following contents has been obtained: starch—5.0, bran—5.0,  $\text{NaNO}_3$ —0.34,  $\text{KH}_2\text{PO}_4$ —0.28,  $\text{MgSO}_4$ —0.05. In the above-mentioned culture medium the increase of acid-stable  $\alpha$ -amylase activity has been achieved as compared with primary level.

УДК 577.154

БИОХИМИЯ

## ФЕРМЕНТНЫЙ ПРЕПАРАТ КИСЛОТОСТАБИЛЬНЫХ $\alpha$ - И ГЛЮКОАМИЛАЗ — АМИЛОНИГРИН Г10Х И ЕГО ИСПОЛЬЗОВАНИЕ В ХЛЕБОПЕЧЕНИИ

Р. Д. Поландова, В. В. Коридзе, Л. И. Гусева, Н. Н. Масликова,  
С. Б. Вартанова, Г. И. Квеситадзе

*Институт биохимии растений АН ГССР, Тбилиси*

*Научно-производственное объединение хлебопекарной промышленности, Москва*

Поступила в редакцию 24.04.1981

Изучены термостабильные и кислотостабильные свойства ферментного препарата амилонигрин Г10Х. Показано, что  $\alpha$ - и глюкоамилазы этого препарата (в сравнении с другими препаратами амилотических ферментов) характеризуются повышенными кислотостабильными свойствами. Вместе с тем оба фермента проявляют достаточно высокую термостабильность.

Установлено, что амилонигрин Г10Х является эффективным улучшателем качества хлеба, приготовленного способом, обеспечивающим оптимальную кислотность среды для действия ферментного препарата.

О эффективности использования в хлебопекарной промышленности амилотических ферментных препаратов в литературе имеется много достоверных данных. По некоторым данным [1] добавление глюкоамилазных препаратов из *Aspergillus awamori* и *Endomycopsis sp.* приводит к значительному улучшению хлеба из муки первого и второго сортов с пониженной газообразующей способностью и короткорвущейся клейковиной. Высказано также мнение [8, 5], что эффективность действия глюкоамилазы выше, чем у  $\alpha$ -амилазы. По мнению авторов амилотические ферментные препараты рационально применять для изделий с низким содержанием сахара.

Целью настоящей работы является выявление кислото- и термостабильных свойств ферментного препарата амилонигрин Г10Х и установление конкретных возможностей его использования в хлебопечении.

### МЕТОДИКА

Основные приемы исследования приведены в нашей предыдущей статье [2], поэтому в данной работе будут указаны лишь новые методы.

В полуфабрикатах содержание моно- и дисахаридов определяли методом газожидкостной хроматографии [3]. Образцы хлеба анализировались по следующим показателям: влажность, кислотность, удельный объем, пористость в %, сжимаемость мякиша [5], содержание редуцирующих сахаров [7], содержание бисульфит связывающих соеди-

нений [6]. Образцы готовили по рецептуре хлеба опарным, безопарным и ускоренным [4] способами в лабораторных и производственных условиях с внесением и без внесения ферментного препарата амилонигрин Г10Х.

### РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

В промышленном отношении наиболее важными свойствами ферментов, определяющими потенциальные возможности их практического использования, являются термостабильность и кислотоустойчивость. Для установления кислотоустойчивых свойств препарата амилонигрин Г10Х ферменты, в отсутствии субстрата, инкубировали при разных значениях рН (от 1,6 до 10,5) при 30° в течение суток (табл. 1).

Таблица 1

Влияние рН инкубационной среды на активность  $\alpha$ -амилазы и глюкоамилазы *A. niger* 147-А

рН	Остаточная активность в %	
	$\alpha$ -амилазы	глюкоамилазы
1,6	4	20
2,1	53	80
2,8	83	92
3,2	86	97
4,1	95	100
4,8	98	100
5,5	100	100
6,0	76	98
6,5	50	95
7,3	23	90
8,0	11	82
9,0	0	22
10,0	0	6,5
10,5	0	0

Таблица 2

Активность глюкоамилазы в % от исходной при различных температурах инкубации

Температура инкубационной среды	Время инкубации в ч			
	0,5	1,0	2	4
30	100	100	100	100
35	100	100	100	100
40	100	100	100	95
50	100	100	95	88
55	95	90	80	68
60	90	75	60	30
65	80	50	28	9
70	28	16	—	—

Как видно из данных этой таблицы, оба фермента проявляют достаточно высокие кислотостабильные свойства, диапазон рН стабильности глюкоамилазы лежит в пределах от 2,2 до 8,0, а  $\alpha$ -амилазы от 2,8 до 6,0. Сопоставляя эти данные с  $\alpha$ -амилазой *A. oryzae* (амилоризин Г10Х), которая при рН 2,5 и 30 мин инкубации полностью и необратимо теряет каталитические свойства, нетрудно убедиться в значительной большей эффективности препарата амилонигрин Г10Х при использовании в кислых условиях. В отношении термостабильности оба фермента этого препарата характеризовались высокой устойчивостью. Особенно следует отметить глюкоамилазу, которая при 2-часовой инкубации при 60°, в отсутствии субстрата, при рН 4,7 сохраняла 60% исходной активности (табл. 2).

Из таблицы видно, что глюкоамилаза, наряду с повышенными кислотостабильными свойствами, характеризуется довольно высокой термостабильностью.

Поскольку в хлебопечении эффективность глюкоамилазных ферментных препаратов определяется прежде всего их способностью катализировать образование из крахмала муки сбраживаемых сахаров, нами было детально исследовано изменение содержания моно- и дисахаридов на основных этапах тестоведения.

Таблица 3

Содержание моно- и дисахаридов в тесте и хлебе, приготовленном безопасным и ускоренным способами

Способы тестования, пробы теста и хлеба	С А Х А Р							сумма
	арабиноза	ксилоза	фруктоза	глюкоза	сахароза	мальтоза	мальтотриоза	
К о н т р о л ь								
Безопасный								
Тесто после замеса	0,002	0,002	0,052	0,100	0,100	0,890	0,090	1,236
Тесто перед выпечкой	0,006	0,005	0,007	0,044	0,005	0,301	следы	0,368
Хлеб	0,002	0,002	0,008	0,027	0,014	0,326	следы	0,379
С а м и л о н и г р и н о м Г Ю Х								
Тесто после замеса	0,002	0,002	0,052	0,100	0,100	0,890	0,090	1,236
Тесто перед выпечкой	0,002	0,002	0,010	0,013	0,023	0,551	0,058	0,659
Хлеб	0,003	0,003	0,016	0,026	0,013	0,418	следы	0,479
К о н т р о л ь								
Ускоренный								
Тесто после замеса	0,050	0,137	0,036	0,257	0,070	0,167	0,152	0,869
Тесто перед выпечкой	0,030	следы	0,065	0,109	0,081	1,080	0,125	1,450
Хлеб	0,019	следы	0,065	0,059	0,056	1,025	0,151	1,375
С а м и л о н и г р и н о м Г Ю Х								
Тесто после замеса	0,052	следы	0,058	0,578	0,115	0,792	0,319	1,909
Тесто перед выпечкой	0,029	0,006	0,016	0,376	0,120	1,383	0,316	2,246
Хлеб	0,020	следы	0,012	0,351	0,126	2,002	0,311	2,822



В табл. 3 приведены данные содержания моно- и дисахаридов в тесте и хлебе из пшеничной муки, приготовленной безопарным и ускоренным способами на концентрированной молочнокислой закваске с ферментным препаратом амилонигрин Г10Х.

Среди моно- и дисахаридов в тесте и хлебе присутствуют глюкоза и фруктоза, пентозы — арабиноза и мальтотриоза. В тесте происходит непрерывный процесс образования глюкозы, мальтозы и мальтотриозы. В полуфабрикатах с ферментным препаратом количество сахаров на всех этапах тестоведения выше, чем в контроле. Количество мальтозы в опытном варианте увеличивается, а в контрольном уменьшается. Ввиду доминирующего положения мальтозы среди водорастворимых углеводов суммарное количество моно- и дисахаридов в процессе приготовления хлеба в контроле снижается, а в опытном варианте, наоборот, увеличивается. Это свидетельствует о том, что в тесте, где в достаточном количестве присутствует глюкоза, дрожжи предпочтительно сбраживают этот моносахарид; мальтоза же при постоянном образовании глюкозы на протяжении всего периода тестоведения утилизируется дрожжами менее интенсивно.

В тесте, приготовленном безопарным способом, изменение сахаров в присутствии амилонигрина Г10Х практически не происходило, что объясняется отсутствием оптимальной кислотности для действия ферментного препарата. Оптимальным значением рН для амилонигрина Г10Х является 4,0—4,5 при температуре 30—40°.

Эффективность действия ферментного препарата амилонигрин Г10Х в средах с повышенной кислотностью подтверждается результатами проведенных выпечек хлеба (табл. 4).

Таблица 4

Изменение физико-химических показателей качества хлеба, приготовленного различными способами с амилонигрином Г10Х (увеличение в % к контролю)

Показатели	С п о с о б ы т е с т о в а н и я			
	Безопарный	Опарный	Ускоренный ВНИИХП в	
			лабораторных условиях	производственных условиях
Удельный объем	1,2	8,8	17,7	10,0
Пористость	1,0	1,0	1,0	2,0
Содержание сахара	0,6	36,4	45,4	43,2
Содержание бисульфит-связывающих соединений	13,2	24,0	28,8	40,9
Кислотность	2,2	2,2	3,4	3,6

Хлеб, приготовленный ускоренным способом с ферментным препаратом амилонигрином Г10Х, отличается повышенным удельным объемом (10—17,7%), содержанием сахаров (43,2—45,4), бисульфитсвязывающих соединений (28,0—40,9). Улучшающий эффект был ниже при опарном и отсутствовал при безопарном способе приготовления теста с ферментным препаратом. Полученные результаты позволяют заключить, что амилонигрин Г10Х эффективно влияет на качество хлеба, приготовленного способом, обеспечивающим оптимальную кислотность для действия ферментного препарата.

ЛИТЕРАТУРА

1. Броварец Т. В., Попадич И. А., Пучкова Л. И. Обзор ЦНИИТЭИ-Пищепром, М., 1970.
2. Коридзе В. В., Поландова Р. Д., Гусева Л. И., Масликова Н. Н., Квачадзе Л. Л., Квеситадзе Г. И. Изв. АН ГССР, сер. биол., 7, 4, 363—368, 1981.
3. Краснянская Т. Б., Макеев Д. М., Линке О. Э. В сб.: Новые сорбенты для хроматографии, «Наука», М., 1974, 58—62.
4. Кузьминский Р. В., Патт В. А., Шербатенко В. В., Немцова З. С., Казанская Л. Н. Хлебопекарная промышленность, 11, 25—28, 1978.
5. Навродская Л. И. Применение ферментных препаратов при производстве хлеба и кондитерских изделий (Серия «Пищевая промышленность»), М., 1978, 26—50.
6. Пучкова Л. И. Лабораторный практикум по технологии хлебопекарного производства, «Пищевая промышленность», М., 1971.
7. Чиждова К. Н. Технохимический контроль хлебопекарного производства, М., «Пищевая промышленность», 1975.
8. Ротеганз I. Sugar in Breadmaking. Bakers Digest, 49, 1, 20, 1975.

გუგავამძლე  $\alpha$ - და გლუკოამილაზების ფერმენტული  
პრეპარატი ამილონიგრინ  $\Gamma 10X$  და მისი გამოყენება  
პურის ცხობაში

რ. კოლანდოვა, ვ. ქორიძე, ლ. გუსევა, ნ. მასლიკოვა, ს. ვართანოვა,  
ბ. კვესიტაძე

საქართველოს სსრ მეცნიერებათა აკადემიის მეცნარეთა ბიოქიმიის ინსტიტუტი,  
თბილისი

პურის მრეწველობის სამეცნიერო-საწარმოო გაერთიანება, მოსკოვი

რ ე ზ ი უ მ ე

შესწავლილ იქნა ფერმენტული პრეპარატის ამილონიგრინ  $\Gamma 10X$ -ის თერ-  
მოსტაბილური და მუავაგამძლე თვისებები. გამოირკვა, რომ ამ პრეპარატის  
 $\alpha$ - და გლუკოამილაზები უფრო მეტად მუავაგამძლენი არიან, ვიდრე სხვა ამი-  
ლოლიზური ფერმენტები.

მიღებული შედეგები ცხადყოფენ, რომ ამილონიგრინ  $\Gamma 10X$  პურის ხა-  
რისხს ეფექტურად აუმჯობესებს, ოღონდ მისი მომზადება იმრიგად უნდა მო-  
ხდეს, რომ ფერმენტული პრეპარატის მოქმედებისათვის დაცული უნდა იყოს  
ოპტიმალური მუავიანობის მქონე არე.

# ACID-STABLE $\alpha$ - AND GLUCOAMYLASE ENZYME PREPARATION AMYLONIGRIN G10X AND ITS APPLICATION IN BREAD INDUSTRY

R. D. POLANDOVA, B. B. KORIDZE, L. I. GUSEVA, N. N. MASLIKOVA,  
S. B. VARTANOVA, G. I. KVESITADZE

Institute of Plant Biochemistry, Georgian Academy of Sciences, Tbilisi, USSR  
Scientific-Industrial Corporation of Bread Industry, Moscow, USSR

## S u m m a r y

Thermostable and acid-stable properties of the enzyme preparation Amylonigrin G10X have been studied. It is shown that  $\alpha$ - and glucoamylases of this preparation are characterized by high acid-stable properties in comparison with other preparations of amylolytic enzymes, both enzymes demonstrated rather high thermostability.

Amylonigrin G 10X could be effectively used for achieving better quality of bread baked by the method promising optimal acidic medium for the operation of enzyme.

УДК 581.132.1

ФИЗИОЛОГИЯ РАСТЕНИЙ

**ФОТОСИНТЕТИЧЕСКАЯ АКТИВНОСТЬ МЕЗОФИЛЬНЫХ  
ПРОТОПЛАСТОВ ТОПОЛЯ *POPULUS DELTOIDES* MARSH.**

М. П. Мгалоблишвили, А. И. Литвинов, Г. А. Санадзе

*Тбилисский государственный университет*

Поступила в редакцию 26.05.1981

Работа посвящена подбору условий, повышающих выход и фотосинтетическую активность протопластов из мезофилла листьев тополя, выделенных ферментативным способом. Показана зависимость этих показателей от условий выращивания растений и возраста листьев. Подобрана реакционная среда (0,6 М сорбита, 50 мМ трипсина, pH 7,6, 10 мМ  $\text{NaHCO}_3$ ), в которой протопласты тополя, выделенные из молодых листьев (листовой пластохронный индекс ЛПИ-10-12), имеют скорость светозависимой фиксации  $\text{CO}_2$  30—50 мкмоль. мг хлг<sup>-1</sup>.ч<sup>-1</sup> и сохраняют такую скорость в течение 10—24 ч при хранении протопластов в темноте и температуре 2—4°C в среде: 0,7 М сорбит, 50 мМ  $\text{HEPES}$ , pH 7. Выход протопластов из молодых листьев, оцениваемый по содержанию хлорофилла в протопластах и исходных листовых дисках, составляет 70—85%.

В настоящее время насчитывается значительное количество видов растений, из листьев которых ферментативным методом удается изолировать жизнеспособные протопласты [4, 6, 8, 10]. Среди этих видов только несколько относятся к древесным [16]. Это, по-видимому, вызвано структурно-биохимическими особенностями листьев древесных растений, усложняющими подбор режима ферментации и последующие этапы получения интактных протопластов [16].

Использование изолированных протопластов листьев травянистых растений в исследованиях по фотосинтезу было начато всего 7—8 лет назад [13]. За последние годы эти исследования быстро и успешно развиваются [1, 10, 11, 14]. Фотосинтетически активные и стабильные протопласты из мезофилла листьев древесных растений впервые получены нами. Были исследованы 4 представителя рода *Populus*, из которых для изучения особенностей метаболизма изопренсинтезирующих растений наиболее удобными оказались листья *Populus deltoides* Marsh. [2].

Известно, что изолирование протопластов зависит от многих факторов, важнейшими из которых, вероятно, являются состав и строение клеточной стенки, содержание крахмала и осмотический потенциал клеток. Эти факторы, в свою очередь, определяются условиями выращивания растений, их видом и возрастом.

В статье приводятся результаты исследования зависимости выхода и фотосинтетической активности протопластов тополя от условий выращивания растений и возраста листьев. Изучено влияние концен-

трации бикарбоната, сорбита и ионов водорода в реакционной среде на способность протопластов к фотосинтезу, а также изменение интенсивности фотосинтеза протопластов в зависимости от времени хранения.

## МЕТОДИКА

Способ ферментативного получения фотосинтетически активных протопластов из мезофилла тополя описан нами ранее [2]. Растения (*Populus deitoides* Marsh.) выращивали в оранжерее из черенков при естественном освещении и температуре ночью 20—25°C, днем — 25—35°C. Растения обильно поливали через каждые 1—2 дня. Опыты проводили в мае-июле. Листовые диски с поврежденным нижним эпидермисом помещали на поверхность ферментного раствора следующего состава: 0,5%-ный мацерозим R-10, 2% онозука R-10, 0,7 М сорбит, 1 мМ CaCl<sub>2</sub>, pH 5,5. Инкубация продолжалась 14—16 ч в темноте при 18—20°C. Протопласты промывали и ресуспендировали в среде: 0,7 М сорбит, 50 мМ HEPES, pH 7; хранили в среде такого же состава в темноте при 2—4°C.

Оптимальный состав реакционной среды для фотосинтеза протопластов, подбор которой составляет основную задачу настоящих исследований, приводится ниже. Содержание хлорофилла в реакционной среде — 5—10 мкг/0,3 мл. Температура опыта — 28°C, освещенность — 2·10<sup>4</sup> лк, время преилюминации — 5 мин, время световой экспозиции с NaH<sup>14</sup>CO<sub>3</sub> (если не указано дополнительно) — 20 мин. Суспензия протопластов перемешивалась вращением стеклянных реакционных кювет вокруг собственной оси (100 об/мин, радиус вращения — 15 мм). Реакцию прерывали добавлением ТХУ (конечная концентрация — 5%).

Интенсивность фотосинтеза листьев определяли на инфракрасном газоанализаторе (ОА-5501). Способность протопластов к усвоению углекислоты изучали радиометрически на сцинтилляционном спектрометре «Мультимат I» (фирма «Интертекник») с использованием диоксидного сцинтиллятора Брея [5]. Эффективность счета по C<sup>14</sup> не менее 90%. Хлорофилл определяли по Циглеру [3].

## РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

В литературе неоднократно указывалось на трудность получения протопластов из растений, выращенных в естественных условиях. Выход протопластов и их жизнеспособность меняются в зависимости от времени года и климатических условий [7, 19, 20]. Уже первые попытки ферментативного изолирования протопластов из листьев тополя, выращенного в неконтролируемых условиях открытого грунта, показали, что использование этого исходного материала является мало перспективным: выход протопластов — менее 10%, а скорость световой фиксации CO<sub>2</sub> не превышала 5 мкмоль·мг хл<sup>-1</sup>·ч<sup>-1</sup>. Когда растения выращивали в закрытом грунте при искусственном круглосуточном освещении (люминесцентные лампы ЛДЦ 40—4, освещенность 5·10<sup>3</sup> лк) и температуре 20—25°C, выход протопластов из мезофилла был стабильным и высоким — 85—95%, однако их фотосинтетическая активность составляла всего лишь 5—10 мкмоль CO<sub>2</sub>·мг хл<sup>-1</sup>·ч<sup>-1</sup>. Наилучший результат был получен с растениями, которые выращивали в оранжерее в естественных условиях освещения. В этом случае выход и фотосинтетическая активность протопластов оказались стабильными и достаточно высокими (40—50 мкмоль CO<sub>2</sub>·мг хл<sup>-1</sup>·ч<sup>-1</sup>). Поэтому все ниже-

описанные опыты проводились с листьями тополя, культивируемого в оранжерее.

Зависимость выхода протопластов и их фотосинтетической способности от возраста листьев показана в табл. 1. Возраст отсчитывается со стадии, когда молодой неразвернувшийся лист имеет длину 25—30 мм и ширину 5—7 мм. Такой лист получает листовой пластохронный индекс нуль, ЛПИ-0[9]. Разворачивание листьев заканчивается на 5—6-й день (ЛПИ-3), а нарастание площади листьев — на 14—16-й день (ЛПИ-9—10). Листья, имеющие ЛПИ больше 14 относятся к зрелым. По сравнению с молодыми они жестче и имеют более темную окраску.

Как следует из табл. 1, при возрастании ЛПИ от 9 до 15 выход протопластов уменьшается от 85 до 52%. Это связано с тем, что более зрелый лист хуже поддается ферментации, и в результате меньшее число клеток преобразуется в протопласты. Для изолирования протопластов из зрелых листьев оказалось необходимым увеличить на 3—4 ч время инкубации высечки листа в ферментном растворе, что могло явиться одной из причин наблюдаемого в опыте снижения стабильности протопластов. Зависимость выхода и стабильности мезофильных протопластов от возраста растений показана для многих видов травянистых [17, 17].

Таблица 1

Выход протопластов и их фотосинтетическая активность в зависимости от возраста листьев тополя

Возраст листа		Количество хлорофилла, мкг		Выход протопластов, %*	Фотосинтез кмоль CO <sub>2</sub> · мг хл <sup>-1</sup> · ч <sup>-1</sup>		
ЛПИ	дни	листовой диск 0,017 дм <sup>2</sup>	протопласты из листового диска		Лист	Протопласт	Протопласт, % от листа
9	14	58	49	85	40,2	24,5	61
10	16	76	52	68	49,0	32,1	6в
15	24	88	46	52	22,0	18,5	84

\*—процент количества хлорофилла в протопластах от содержания в исходных листовых дисках

Из табл. 1 также видно, что фотосинтетическая активность листьев и выделенных из них протопластов наиболее высокая при ЛПИ-10, ниже — при ЛПИ-9 и еще ниже — при ЛПИ-15. Фотосинтетическая активность протопластов из молодых листьев составила 60—65% от листа, в случае зрелых листьев — 84%. Однако абсолютные величины скорости фиксации CO<sub>2</sub> зрелыми листьями и протопластами из этих листьев были ниже соответствующих величин для молодых листьев и протопластов в 1,5—2 раза. Поэтому, учитывая выход протопластов из листьев разного возраста, с одной стороны, и их фотосинтетическую активность, с другой, для последующих экспериментов мы отбирали полностью развернувшиеся молодые листья с ЛПИ-10—12.

Изменение фотосинтетической активности протопластов в зависимости от времени их хранения показано на рис. 1. Наибольшее изменение скорости фиксации CO<sub>2</sub> наблюдается в течение первых 3 ч. За это время интактные протопласты, находящиеся в метаболическом шоке, вызванном процедурой ферментации и последующими этапами

выделения, по-видимому, успевают восстановить основные физиологические функции, тогда как поврежденные протопласты полностью или почти полностью утрачивают их. Изменение фотосинтетической активности определяется, по-видимому, количественным соотношением

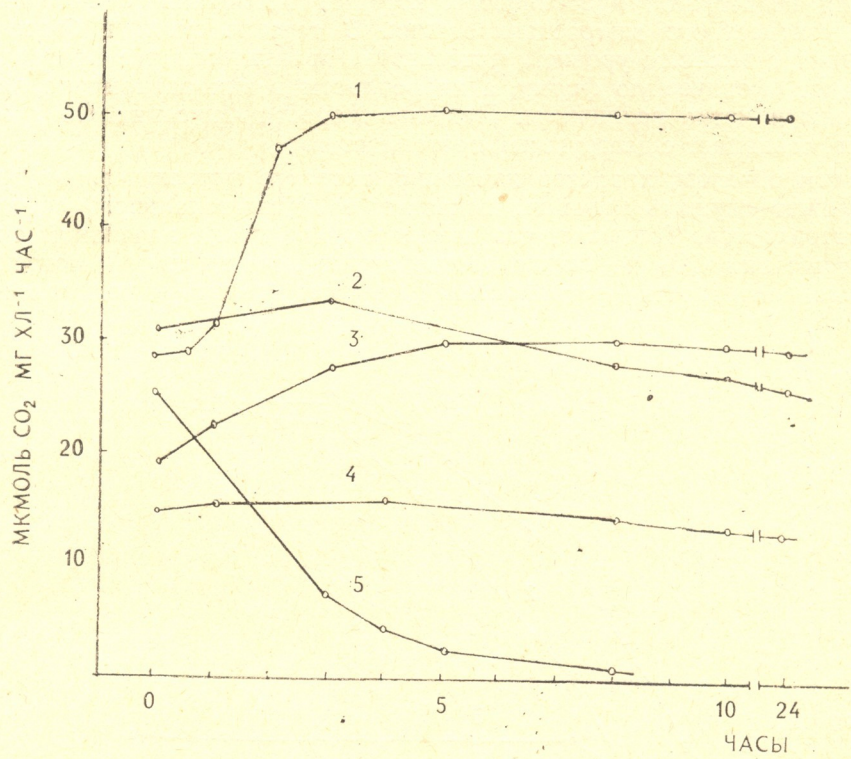


Рис. 1. Зависимость интенсивности фотосинтеза протопластов от времени их хранения

между интактными и поврежденными протопластами и их способностью восстанавливать нормальную жизнедеятельность. Для суспензии с наиболее высоким содержанием интактных протопластов (кривая 1) характерно резкое нарастание начальной скорости фиксации CO<sub>2</sub> после непродолжительного лаг-периода и сохранение высокого уровня фиксации в течение суток и более. Длительное поддержание высокого уровня фотосинтеза известно также для мезофильных протопластов некоторых травянистых растений [8, 10, 15].

Для суспензий, содержащих большое количество поврежденных протопластов (рис. 1, кривая 5), характерно падение скорости ассимиляции CO<sub>2</sub>, которая за 6—8 ч хранения снижается почти до нуля. Кривые 2—4 описывают функциональное состояние протопластов в суспензиях, занимающих по содержанию интактных протопластов промежуточное положение. Сравнительно низкая, но стабильная скорость фиксации CO<sub>2</sub> (кривая 4) может быть результатом того, что только часть протопластов в продолжение всего опыта остается интактной. Занижение величины фиксации CO<sub>2</sub> происходит, вероятно, из-за того, что расчет величины скорости фотосинтеза во всех случаях проводился на общее количество хлорофилла, содержащегося как в интактных, так и в поврежденных протопластах. Исходя из этих соображений, можно также дать объяснение ходу кривых 2 и 3, которые, по-видимому, свидетельствуют о содержании в суспензиях большего количества

интактных протопластов, чем в суспензии, которая соответствует кривой 4.

Следует отметить, что характер изменения скорости фотосинтеза протопластов во времени коррелирует с данными морфологического контроля целостности протопластов, который проводили с помощью фазово-контрастного микроскопирования. В течение суток и более в суспензиях с высоким уровнем фотосинтеза практически все протопласты имеют сферическую форму, а хлоропласты в них равномерно распределены и четко различимы. Падение скорости фиксации  $\text{CO}_2$ , как правило, совпадает с деструкцией протопластов.

Таким образом, характер изменения скорости фотосинтеза во времени может служить хорошим показателем функционального состояния протопластов. Тот факт, что измеряемая величина начальной скорости фиксации  $\text{CO}_2$  не всегда соответствует потенциальной фотосинтетической активности протопластов, позволяет сделать вывод, что ис-

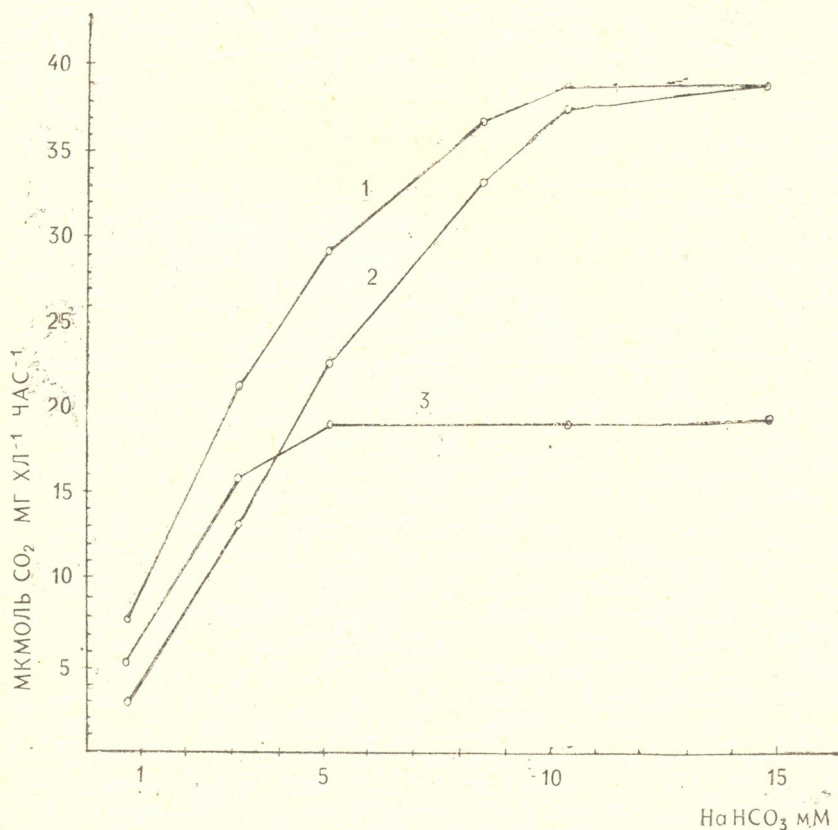


Рис. 2. Световая фиксация  $\text{CO}_2$  протопластами в зависимости от концентрации бикарбоната натрия в реакционной среде: 1 и 2 — высокоактивные протопласты (время опыта: 1—20 мин, 2—60 мин); 3 — протопласты средней активности (время опыта—20 мин)

следование фотосинтеза следует проводить через 2—3 ч после их выделения.

Изучение влияния концентрации бикарбоната натрия в реакционной среде на фотосинтез протопластов показало, что с ее увеличением скорость фиксации  $\text{CO}_2$  возрастает (рис. 2). Насыщение этого процес-



са для высокоактивных протопластов происходит при концентрации бикарбоната 10 мМ (рис. 2—1 и 2), а для протопластов со средней активностью — уже при 5 мМ  $\text{NaHCO}_3$  (рис. 2, 3). При одночасовой экспозиции (рис. 2, 2) лимитирующее влияние бикарбоната сказывается в большей степени, чем в двадцатиминутных опытах (рис. 2, 1). Следует отметить, что концентрации бикарбоната, при которых происходит насыщение процесса фиксации  $\text{CO}_2$  мезофильными протопластами некоторых травянистых растений, близки к концентрациям, установленным для мезофильных протопластов тополя, и составляют 5—10 мМ [1, 8, 10—12, 14, 15].

Зависимость фотосинтеза протопластов от концентрации сорбита в реакционной среде показана на рис. 3. Оптимальной для фиксации

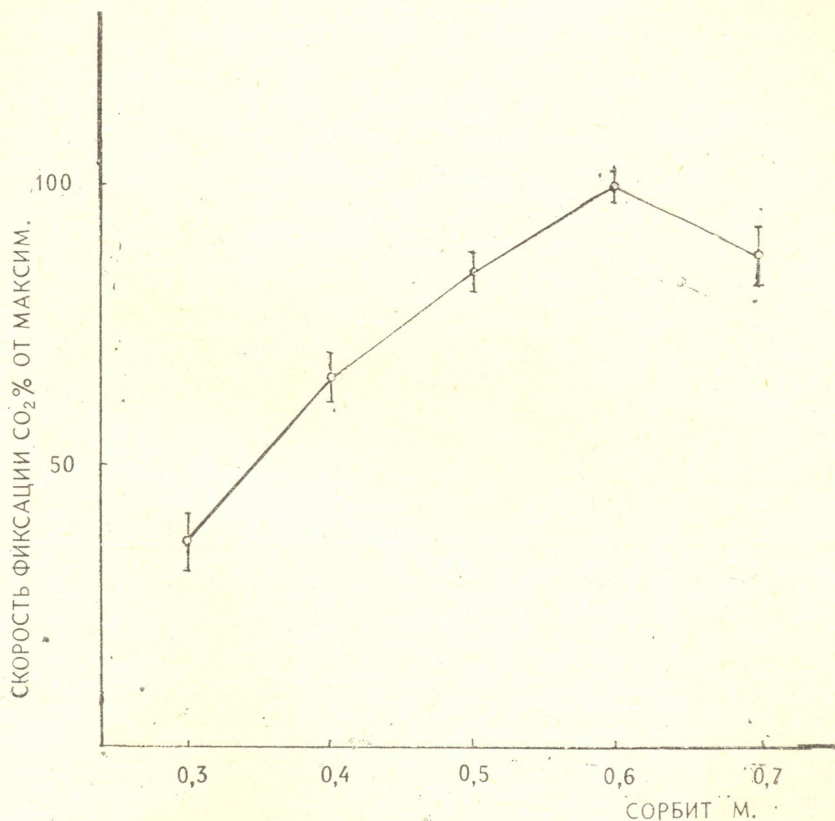


Рис. 3. Зависимость световой фиксации  $\text{CO}_2$  у протопластов тополя от концентрации сорбита в реакционной среде

$\text{CO}_2$  оказалась концентрация сорбита 0,6 М. Увеличение или понижение концентрации осмотика на 0,1 М от этой точки вызывает снижение интенсивности фотосинтеза всего на 10—15%. При уменьшении концентрации сорбита до 0,3 М интенсивность фотосинтеза составляет только 30—40% от максимальной. Сходный характер зависимости фотосинтеза от содержания осмотика в реакционных средах выявлен также для протопластов других растений [1], однако их оптимальные концентрации могут значительно различаться. Так, для протопластов табака оптимальная концентрация сорбита составляет 0,5 М [10], для протопластов гороха — 0,3 М [12], а для протопластов шпината использовался маннит в концентрации 0,8 М [15].

Изучение влияния различных величин рН реакционной среды на скорость фиксации  $\text{CO}_2$  у протопластов выявило зависимость, которая описывается кривой на рис. 4. При рН среды между значениями 7 и 8 скорость фиксации  $\text{CO}_2$  в пределах ошибки измерения не меняется. Увеличение рН до 8,5 вызывает постепенное падение скорости фото-

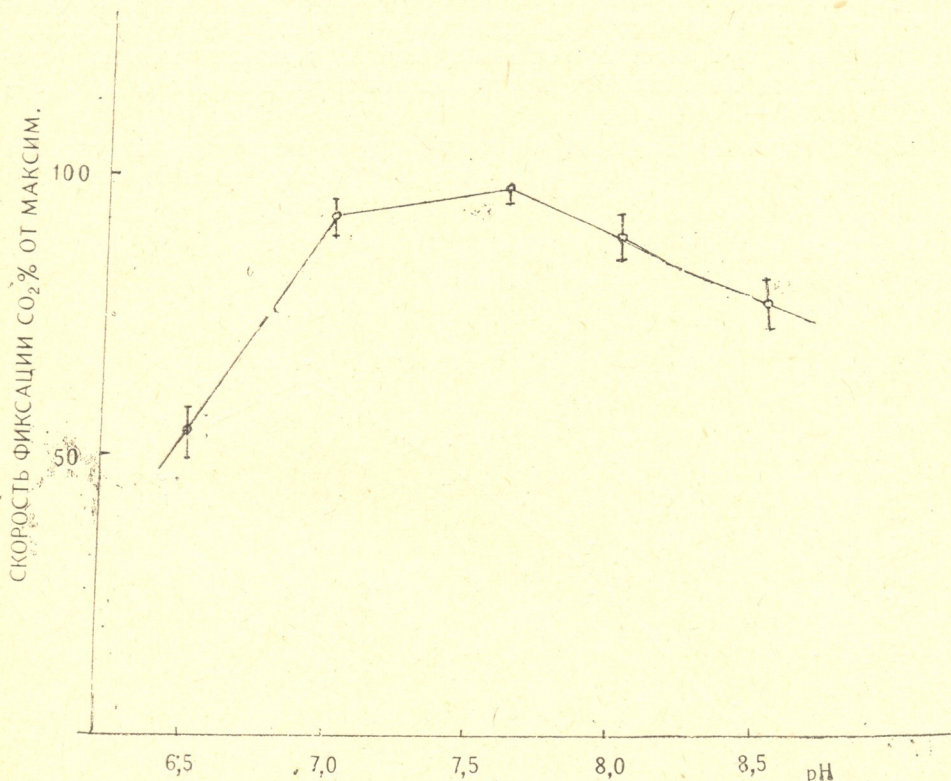


Рис. 4. Зависимость скорости фиксации  $\text{CO}_2$  у протопластов от рН реакционной среды

синтеза (на 10—15%), тогда как понижение рН до 6,5 приводит к ее более быстрому падению (на 40—50%). Зависимость скорости фотосинтеза протопластов некоторых других видов растений от рН имеет сходный характер [15], и оптимальные значения чаще всего находятся в пределах 7,5—7,8 [1, 8, 10—12, 14].

Важно отметить, что кривые, описывающие зависимость скорости фотосинтеза от изменения величины рН и концентрации осмотика на участках, соответствующих максимальным скоростям фотосинтеза, приближаются к плато. Это делает протопласты удобным объектом исследований.

Таким образом, в результате проведенной работы для фотосинтеза мезофильных протопластов тополя подобрана следующая реакционная среда: сорбит—0,6 М, трисин—50 мМ, рН 7,5,  $\text{NaH}^{14}\text{CO}_3$ —10 мМ (уд. акт.—2,1 мКи/ммоль). В этой реакционной среде протопласты, выделенные из молодых 16—18-дневных листьев тополя, фиксируют  $\text{CO}_2$  со скоростью 30—50  $\mu\text{моль}\cdot\text{мг}\cdot\text{хл}^{-1}\cdot\text{ч}^{-1}$  и сохраняют такую скорость в течение 10—24 ч. Совокупность полученных результатов позволяет считать изолированные мезофильные протопласты тополя вполне надежной экспериментальной моделью фотосинтезирующей ткани изопренвыделяющих растений.

ლიტერატურა

1. Лозовая В. В., Тарчевский И. А., Горшкова Т. А., Райманов И. Т. Физиол. раст., 28, 73—77, 1981.
2. Мгалоблишвили М. П., Литвинов А. И., Санадзе Г. А. Сообщения АН СССР, 102, 133—136, 1981.
3. Шлык А. А. Биохимия, 33, 275—288, 1968.
4. Bajaj I. P. S. In: «Appl. and fundam. aspects of plant cell, tissue, and organ cult.», Eds I. Reinert and I. P. S. Bajaj (Berlin, Hiedelberg, New-York: Springer Verlag), 1977, 467—496.
5. Вгау G. A. Analytical biochemistry, 1, 279—285, 1960.
6. Butenko R. G. International review of cytology, 59, 323—373, 1979.
7. Cassells A. C., Barlass M. Physiol. Plant., 42, 236—242, 1978.
8. Chellappan K. P., Gnanam A. Proc. Indian Acad. Sci. (Plant Sci), 89, 79—90, 1980.
9. Dickmann D. I. Plant Physiol., 48, 143—145, 1971.
10. Edwards G. E., Huber S. C., Gutierrez M. In: «Microbiol. and Plant Protoplasts» (J. Peberdy et al. Eds) Academic Press, New York, 1976, 299—322.
11. Edwards G. E., Robinson S. P., Tyler N. J. C., Walker D. A. Plant Physiol., 62, 313—319, 1978.
12. Huber S. C., Hall T. C., Edwards G. E. L. Pflanzenphysiol, 85, 153—163, 1977.
13. Kanai R., Edwards G. E. Plant Physiol., 51, 1133—1137, 1973.
14. Leegood R. C., Walker D. A. Plant Physiol., 63, 1212—1214, 1979.
15. Nishimura M., Akazawa T. Plant Physiol., 55, 712—716, 1975.
16. Saito A. Bul. For. and For. Prod. Res. Inst., 309, 1—6, 1980.
17. Schaskolskaya N. D., Sacharovskaya G. N., Sacharova E. V. Colloq. Int. Protoplastes, 1st, 1972, Paris, 1973, 93—98.
18. Takebe I., Otsuki Y., Aoki S. Plant Cell Physiol., 9, 115—124, 1968.
19. Tal M., Watts I. W. Pflanzenphysiol., 92, 207—214, 1978.
20. Watts I. W., Motoyoshi F., King I. M. Ann. Bot., 38, 667—671, 1974.

შერხვის (*Populus deltoides* Marsh.) მეზოფილის  
პროტოპლასტების ფოტოსინთეზური აქტივობა

ა. მბალობლიშვილი, ა. ლიბვინოვი, ბ. სანაძე

თბილისის სახელმწიფო უნივერსიტეტი

რეზიუმე

შესწავლილ იქნა ვერხვის სხვადასხვა ასაკის ფოთლების მეზოფილიდან ფერმენტული გზით მიღებული პროტოპლასტების გამოსავალი და ფოტოსინთეზური აქტივობა. პროტოპლასტების ფოტოსინთეზისათვის შერჩეულ იქნა რეაქციული არე (0,6 მ სორბიტი, 50 მმ ტრისინი, pH 7,6; 10 მმ NaHCO<sub>3</sub>), რომელშიც პროტოპლასტები ახდენენ CO<sub>2</sub>-ის ფიქსაციას 30—50 მკმოლი X მგ ქლ<sup>-1</sup>X სთ<sup>-1</sup> სიჩქარით და ამ სიჩქარეს 10—24 სთ განმავლობაში ინარჩუნებენ. პროტოპლასტების გამოსავალი ვერხვის 16—18 დღის ფოთლებიდან 70—85%-ა.

PHOTOSYNTHETIC ACTIVITY OF POPLAR (*POPULUS DELTOIDES* MARSH). MESOPHYLL PROTOPLASTS



M. P. MGALOBlishvili, A. I. LITVINOV, G. A. SANADZE

Tbilisi State University

S u m m a r y

The article deals with some conditions, which facilitate the yield and photosynthetic activity of poplar mesophyll protoplasts. The optimum composition of the incubation medium for CO<sub>2</sub> fixation is the following: 0,6 M sorbitol, 50 mM tricine, pH 7.6, 10 mM NaHCO<sub>3</sub>. The protoplasts from the young leaves (leaf plastochron age, LPA 10—12) were stable up to 24 hr, without loss of original activity of CO<sub>2</sub> fixation (30—50 μmoles CO<sub>2</sub>. mg Chl<sup>-1</sup>.hr<sup>-1</sup>) when stored in 0.7 M sorbitol, 50 mM HEPES, pH 7, at 4°C in darkness. The protoplasts yield estimated from the relative chlorophyll content of the tissue and protoplasts, was equal to 70—85 %.

УДК 616.34-022:612.015

МИКРОБИОЛОГИЯ

**ИЗУЧЕНИЕ ОСНОВНЫХ БИОЛОГИЧЕСКИХ СВОЙСТВ  
УСЛОВНО-ПАТОГЕННЫХ ЭНТЕРОБАКТЕРИЙ РОДОВ  
ENTEROBACTER, HAFNIA, CITROBACTER, PROVIDENCIA,  
ВЫДЕЛЕННЫХ ПРИ КИШЕЧНЫХ И ДРУГИХ  
ВОСПАЛИТЕЛЬНЫХ ЗАБОЛЕВАНИЯХ**

**В. Е. Курашвили, Л. К. Вепхвадзе, М. Ш. Кобахидзе,  
З. В. Орджоникидзе**

*Тбилисский государственный институт усовершенствования врачей МЗ СССР*

Поступила в редакцию 0.5 03 1981

От больных с этиологически не подтвержденными острыми и хроническими кишечными заболеваниями и гнойно-воспалительными процессами различной локализации выделены 116 штаммов энтеробактер, 47 — гафния, 23 — цитробактер, 9 — провиденция.

У выделенных культур обнаружены факторы патогенности: гемолитическая активность, ферменты коагулаза, гиалуронидаза, лецитиназа.

Инфекции, вызванные кишечным семейством возбудителей, занимают значительное место среди регистрируемых в настоящее время инфекционных заболеваний.

В плане снижения заболеваемости кишечными инфекциями большое значение имеет выяснение этиологической значимости различных представителей семейства кишечных бактерий. В последнее время все большее внимание микробиологов, эпидемиологов и клиницистов привлекают условно-патогенные представители кишечных бактерий, такие как энтеробактер, гафния, серратия, цитробактер, провиденция и др. Эти группы бактерий в определенных условиях могут вызывать инфекционные заболевания и местные воспалительные процессы. Между тем микробиологическая диагностика кишечных заболеваний в настоящее время ведется, в основном, путем выделения и идентификации только общеизвестных патогенных групп кишечных бактерий — шигелл, сальмонелл, энтеропатогенных эшерихий, что позволяет установить природу острых кишечных заболеваний менее чем в половине случаев [7].

Биохимическое сходство и родственные антигенные связи с условно-патогенными представителями семейства кишечных нередко служат причиной диагностических ошибок при идентификации последних.

В этой связи целью настоящей работы было изучение основных биологических свойств условно-патогенных родов энтеробактер, гафния, серратия, провиденция и др., выделенных при кишечных инфекциях и других воспалительных процессах.

Этиологическая роль бактерий указанных выше родов в возникновении кишечных и других воспалительных процессов показана рабо-

тами ряда авторов. Эти материалы демонстрируют возросшую роль энтеробактерий в инфекционной патологии человека [2, 3, 4, 6, 8].

Нами проведена работа по детальному исследованию культур, выделенных у больных с различными острыми кишечными заболеваниями и другими воспалительными процессами.

Всего было выделено 195 культур: 191 у больных острыми кишечными заболеваниями и 4 при гнойно-воспалительных процессах других локализаций.

Среди выделенных культур 116 оказались принадлежащими к роду энтеробактер: 63 — *Enterobacter aerogenes* и 53 — *Enterobacter cloacae*. Среди больных острыми кишечными заболеваниями, от которых выделены энтеробактер, большинство составляли больные с диагнозом острого гастроэнтерита и пищевой токсикоинфекцией неустановленной этиологии; одна культура получена от больной с гнойным аппендицитом. Результаты изучения ферментативной активности выделенных культур представлены в табл. 1. Из таблицы видно, что все

Таблица 1

Ферментативная активность условно-патогенных энтеробактерий (суммарные данные)

Тесты или субстраты	Энтеробактер				Гаффия		Цитробактер		Провиденция		
	клоаце		аэроген.		+	—	+	—	+	—	
	+	—	+	—							
Глюкоза (газ)	53	0	63	0	47	0	23	0	5	4	
Лактоза	31	22	32	31	9	38	9	14	0	9	
10%-ная лактоза	51	2	62	1	23	24	17	6	0	9	
Маннит	53	0	63	0	45	2	23	0	0	9	
Сахароза	52	1	62	1	33	14	12	11	5	4	
Мальтоза	53	0	63	0	47	0	23	0	0	9	
Ксилоза	53	0	63	0	45	2	23	0	0	9	
Сорбит	53	0	63	0	0	47	23	0	0	9	
Арабиноза	53	0	63	0	47	0	23	0	0	9	
Дульцит	13	40	7	56	0	47	8	15	0	9	
Инозит	3	50	63	0	0	47	0	23	4	5	
Рамноза	53	0	63	0	47	0	23	0	0	9	
Цитрат Симонса	53	0	63	0	27	20	23	0	9	0	
Мочевина	44	9	4	59	0	47	0	23	0	9	
Малонат	50	3	58	5	37	10	15	8	0	9	
Сероводород	0	53	0	63	2	45	12	11	0	9	
Индол	0	53	0	63	0	47	11	12	9	0	
Метиловый красный 37°	0	53	0	63	47	0	23	0	9	0	
” ” 22°					0	47					
Фогес-Проскауэр 37°	53	0	63	0	40	7	0	23	0	9	
” ” 22°					0	47					
Декарбоксилаза	лизина	0	53	63	0	47	0	0	23	0	9
	аргинина	53	0	0	63	0	47	13	10	0	9
	орнитина	53	0	63	0	47	0	10	13	0	9
Желагина	46	7	11	52	0	47	0	23	0	9	
Фенилаланиндезаминаза	0	53	0	63	0	47	9	14	9	0	
Подвижность	53	0	63	0	30	17	15	8	6	3	
Оксидаза	0	53	0	63	0	47	0	23	0	9	

выделенные культуры ферментировали глюкозу, маннит, мальтозу, ксилозу, сорбит, арабинозу, утилизировали цитрат в среде Симонса. Большинство штаммов замедленно гидролизировали мочевину, не имели фенилаланиндезаминазы и не образовывали сероводорода и индола. В отношении дульцита, инозита, сахарозы наблюдались разные биохимические типы. Культуры давали отрицательную реакцию с метило-

вым красным и положительную реакцию Фогес-Проскауэра. Отдельные виды энтеробактер отличались по результатам реакций в тестах с аминокислотами, разжижению желатины. Все культуры были подвижны.

47 из выделенных нами культур были идентифицированы как бактерии рода гафния. Выделенные культуры ферментировали глюкозу, арабинозу, рамнозу, мальтозу. Не ферментировали сорбит и дульцит. Не образовывали индол, и за редким исключением — сероводород. Около половины штаммов (27) росли на среде Симонса при 37°; 30 культур оказались подвижными. Все культуры давали положительную реакцию в тесте с метиловым красным (метилрот) при 37° и отрицательную — при 22°. Реакция Фогес-Проскауэра оказалась положительной у большинства культур при температуре 37° и отрицательной при 22°. Все культуры обладали декарбоксилазой лизина и орнитина и не декарбоксилировали аргинин. Дезаминазы фенилаланина не обнаружено ни у одной из культур.

От больных с острыми кишечными заболеваниями (острый гастроэнтерит, пищевая токсикоинфекция) было выделено 23 культуры бактерий рода цитробактер. Из них одна культура была получена из мокроты больного бронхопневмонией. Все выделенные культуры ферментировали глюкозу, маннит, мальтозу, ксилозу, арабинозу, сорбит, рамнозу, утилизировали цитрат натрия, обуславливали положительную реакцию с метиловым красным и отрицательную реакцию Фогес-Проскауэра, не декарбоксилировали лизин, разное относились к аргинину и орнитину, не дезаминировали фенилаланин, не разлагали мочевины, не разжижали желатину, различно вели себя в отношении лактозы, малоната натрия, сахарозы, дульцита. Около половины штаммов образовывали сероводород. Подавляющее большинство штаммов не образовывали индол и обладали выраженной подвижностью.

С помощью адсорбированных сывороток к 32 серологическим O-группам цитробактер производства Московского НИИ вакцин и сывороток им. И. И. Мечникова удалось идентифицировать 23 культуры цитробактер. Установлена циркуляция представителей пяти O-групп, среди которых чаще встречались группы OB (8 штаммов), AO (5), OC (3), OD (3), OE (4). У 9 штаммов выявлено наличие Vi-антигена.

Нами изучено также семь штаммов провиденций, выделенных от больных кишечными заболеваниями, и два штамма некишечного происхождения. Как видно из табл. 1, ни одна культура не ферментировала лактозу, все ферментировали глюкозу, из них 4 культуры без газа, 5 культур с образованием газа. Все штаммы образовывали индол, росли на среде Симонса, положительно реагировали с метиловым красным, обладали фенилаланиндезаминазой, не гидролизировали мочевины, не образовывали сероводород, не разжижали желатину, не образовывали ацетилметилкарбинола в реакции Фогес-Проскауэра; четыре штамма ферментировали инозит.

По совокупности биохимических признаков пять штаммов относились к виду *Providencia alcalifaciens* (ферментировали глюкозу с газом и не разлагали инозит), остальные четыре оказались *Providencia stuartii*.

В решении вопроса об этиологической роли условно-патогенных энтеробактерий при кишечных инфекциях имеет значение результат их серологического типирования, так как вполне возможно, что определенные серологические группы и типы этих микроорганизмов по аналогии с энтеропатогенными эшерихиями, способны вызывать кишечные заболевания. Из-за отсутствия диагностических агглютинирующих сывороток, производство которых пока не налажено, серологическое ти-

пирование штаммов энтеробактер, гафния и провиденция не произошло. Мы располагали лишь диагностическим набором сывороток цитробактер.

Для выяснения этиологической значимости различных представителей семейства кишечных бактерий определенный интерес представляло изучение факторов патогенности у выделенных культур.

Как известно, способность вызывать инфекционный процесс формируется у бактерий в направлении приобретения функций, позволяющих им проникать в организм хозяина, противостоять его защитным системам, а также вызывать нарушения деятельности физиологически важных систем. За каждой функцией возбудителя стоят определенные биохимически активные вещества. Материальные носители той или иной биологической активности, детерминирующей соответствующую функцию возбудителя, представлены химически определенными веществами или системами, которые выступают как фактор патогенности [1].

Одно из звеньев в сложной цепи многочисленных факторов патогенности составляют ферменты, действие которых направлено на усиление патогенетического действия микробов и, прежде всего, на преодоление защитных реакций макроорганизма. Такими ферментами, расщепляющими высокомолекулярные соединения тканей макроорганизма и способствующими проявлению агрессивных свойств возбудителей инфекции, являются: коагулаза, гиалуронидаза, нейраминидаза, дезоксирибонуклеаза, лецитиназа и др.

В настоящей работе представлены результаты определения у выделенных культур некоторых ферментов (коагулазы, ДНК-азы, гиалуронидазы, лецитиназы, фибринолизина, каталазы) и токсических субстанций (гемолитической активности). Определение ферментов проводилось по общепринятым методам.

Данные определения активности «ферментов патогенности» представлены в табл. 2. Из таблицы видно, что среди изученных культур энтеробактер коагулазоактивных было 70 штаммов. Фермент гиалуронидаза определялся у 30 штаммов, фибринолизин — у одного. Все штаммы были положительны в отношении каталазы и отрицательны по отношению к ДНКазе и лецитиназе. Гемолитическая активность выявлена у одного штамма.

Таблица 2

Определение активности ферментов у штаммов энтеробактер, гафния, цитробактер и провиденция

Культура бактерий	Количество штаммов	Количество штаммов, активных по						Гемолитическая активность
		коагулазе	ДНКазе	гиалуронидазе	лецитиназе	фибринолизину	каталазе	
Энтеробактер	95	70	—	30	—	1	95	1
Гафния	33	18	—	13	4	—	33	—
Цитробактер	19	6	—	10	—	—	19	5
Провиденция	7	3	—	—	—	—	7	—

Среди 33 штаммов гафний все были каталазоположительными, 18 — коагулировали плазму, 13 — обладали гиалуронидазой. Остальные факторы патогенности не определялись.



Как выяснилось из проведенных экспериментов, все взятые в опыт 19 штаммов цитробактер обладали каталазой, 5 штаммов гемолизировали эритроциты, 10 штаммов содержали гиалуронидазу, 5 — коагулазу. Все штаммы были отрицательны по отношению к ДНКазе, лецитиназе и фибринолизину.

У всех штаммов провиденций обнаружена каталаза, у трех из них выявлена коагулаза.

Различные ферменты, наряду с гемолитической активностью, образуют тот комплекс факторов патогенности, который имеет реальную возможность вызвать развитие инфекционного процесса.

ЛИТЕРАТУРА

1. Езепчук Е. В. Биомолекулярные основы патогенности бактерий. «Наука», М., 1977.
2. Калашникова Г. К., Деревлева З. Я., Гурова Л. И., Игнатьева Ю. М., Бабошко А. И., Нечепорук А. Г., Смирнова И. Д., Чувашова К. М. ЖМЭИ, II, 73—77, 1976.
3. Калашникова Г. К., Трошина Л. Д., Харитонов Н. С., Насухов Л. О., Шевчук Т. И., Юхименко Л. Н. ЖМЭИ, 10, 73—77, 1977.
4. Киселева Б. С., Дусмухамедова Н. С., Голубева И. В., Таштулатов Р. Ю., Бондаренко В. М. ЖМЭИ, 12, 49—52, 1978.
5. Романов В. А., Рагинская В. П., Мельников В. В., Цешковский И. С. ЖМЭИ, 6, 110—111, 1980.
6. Покровский В. И. Тез. докл. XVI Всес. съезда микр. и эпид., I, М., 1977.
7. Холодкова Е. В., Крюков Ю. М., Батуро А. П., Лифшиц М. Б., Глебовская М. А., Баброва В. М., Искорниева Л. А. ЖМЭИ, 12, 20—23, 1977.

ნაწლავთა და სხვა ლოკალიზაციის ანთეზიითი პროცესების  
დროს გამოყოფილი პირობით-პათოგენური  
ენტერობაქტერიების (*ENTEROBACTER*, *HAFNIA*, *CITROBACTER*  
*PROVIDENCIA*) ძირითადი ბიოლოგიური თვისებების შესწავლა

მ. უსრაშვილი, ლ. ვეფხვაძე, მ. კობახიძე, ზ. ორჯონიძე

სსსრ ჯანმრთელობის დაცვის სამინისტროს ექიმთა დახელოვნების  
თბილისის სახელმწიფო ინსტიტუტი

რ ე ზ ი უ მ ე

ეტოლოგიურად დაუსაბუთებელი ნაწლავთა მწვავე და ქრონიკული დავადებებისა და სხვადასხვა ლოკალიზაციის ანთეზიითი პროცესების დროს გამოყოფილ იქნა 195 კულტურა.

გამოყოფილი კულტურების ფერმენტული თვისებების შესწავლის შედეგად 116 შტამი მიეკუთვნა ენტერობაქტერს, 47 — ჰაფნიას, 23 — ციტრობაქტერს, 9 — პროვიდენციას.

გამოყოფილ კულტურებს აღმოაჩნდათ პათოგენობის ფაქტორები: ჰემოლიზური აქტივობა, ფერმენტები კოაგულაზა, ჰიალურონიდაზა, ლეციტინაზა.



STUDY OF BASIC BIOLOGICAL PROPERTIES OF CONDITIONAL  
PATHOGENIC ENTEROBACTERIA OF THE GENUS ENTEROBACTER,  
HAFNIA, CITROBACTER, PROVIDENCIA ISOLATED DURING  
INTESTINAL AND OTHER INFLAMMATORY DISEASES

V. E. KURASHVILI, L. K. VEPKHVADZE, M. SH. KOBAKHIDZE,  
Z. V. ORJONIKIDZE,

Tbilisi State Institute for Advanced Medical Training, USSR Ministry of Health

S u m m a r y

In patients suffering from etiologically not confirmed acute and chronic intestinal diseases and pyo-inflammatory processes of different localization 116 strains of *Enterobacter*, 47—*Hafnia*, 23—*Citrobacter*, 9—*Providencia* have been isolated. The isolated factors revealed the pathogenicity factors. hemolytic activity, the ferments—coagulase, hyaluronidase, lecithinase.

УДК 575.312.36

РАДИОБИОЛОГИЯ

## ВЛИЯНИЕ ЭЛЕКТРОМАГНИТНЫХ ПОЛЕЙ (ЭМП) ЗВУКОВЫХ ЧАСТОТ (ЗЧ) НА ХРОСОМОСНЫЙ НАБОР КУЛЬТИВИРУЕМЫХ ЛИМФОЦИТОВ ЧЕЛОВЕКА

Г. Г. Думбадзе

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

Поступила в редакцию 11.09.1981

Показано, что однократное воздействие ЭМП (3,2 кГц;  $H=0,88$  эрстед) в течение 20 ч в первый день культивации и по 5 ч ежедневно в течение 3-х суток повышает частоту хромосомных нарушений, проявляющихся в виде полиплоидии, анеуплоидии, деспирализации и нечеткой конфигурации хромосом. Приведены количественные показатели этих изменений в зависимости от дозы воздействия ЭМП.

Электромагнитные поля занимают особое место среди физических факторов, способных активно воздействовать на генетический аппарат клеток живых организмов [1, 2]. Установление мутагенной активности при воздействии ЭМП от инфракрасного излучения до гамма-лучей заставило обратить внимание и на другие области спектра, в частности звуковой, в диапазоне 0,3—30 кГц, о мутагенной активности которых в литературе имеются лишь единичные сведения. Так, показано, что под влиянием импульсных магнитных полей в корнях растущего чеснока увеличивается частота мутаций [9]. Подобные воздействия вызывают патологические нарушения в соматических и зародышевых клетках дрозофиллы [5]. Мутагенность ЭМП широкого спектра частот была выявлена на бактериях, спорах, растениях, а также у высших животных [3].

Спектр действия ЭМП на высшие организмы исключительно широк [1, 2, 4], однако критическими считаются нервная и кровяная системы. Поэтому вполне вероятны изменения в периферической крови, особенно в клетках лимфоидного ряда, генетический аппарат которых, наряду с высокой чувствительностью к внешним факторам различной физической природы, длительное время репродуцирует нарушения, возникающие после однократного воздействия, и этот эффект может быть использован в качестве количественного критерия биологической дозиметрии [7].

В настоящей работе определялась мутабельность ЭМП ЗЧ в диапазоне 0,3—30 кГц на хромосомный набор культур лимфоцитов периферической крови человека. В доступной нам литературе подобные сведения не публиковались.

Лимфоциты периферической крови человека, культивируемые по методу Мурхеда и др. [6], подвергали воздействию ЭМП ЗЧ (3,2 кГц;  $H=0,88$  эрстед) в соленоиде. Изучались эффекты ежедневного 5-часового воздействия в течение 3-х суток и однократного — в течение 20 ч в первый день культивирования. Контролем служили параллельно культивируемые лимфоциты, не подвергавшиеся какому-либо воздействию. На 72-й ч культивации клетки фиксировали по вышеуказанному методу. Анализ метафазных хромосом приводили на микрофотографиях, выполненных при помощи светового микроскопа (УВ 90×10, Ратенов, ГДР).

## РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЙ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

Результаты исследований, полученные при анализе 1500 метафаз культуры лимфоцитов 30 обследованных лиц, представлены в табл. 1. Из таблицы видно, что после воздействия ЭМП ЗЧ кариотип культур

Таблица 1

Количественная характеристика хромосомных наборов культур лимфоцитов периферической крови человека после воздействия ЭМП ЗЧ\*

Характер воздействия	Количество исследованных метафаз	Вид нарушений в %				
		Анеуплоидия	Полиплоидия	Хроматидные разрывы	Деспирализация хромосом	Нечеткая конфигурация хромосом
1. Контроль	500	2,1±0,6	0,5±0,1	2,8±0,7	0,7±0,3	0,3±0,2
2. Однократное в течение 20 ч	500	23,2±2,6 $P<0,001$	5,8±1,4 $P<0,001$	13,8±2,1 $P<0,01$	5,4±1,4 $P<0,05$	11,0±2,0 $P<0,001$
3. 5 ч ежедневно в течение 3-х суток	500	6,9±0,01 $P_1<0,01$ $P_2<0,001$	3,5±0,8 $P_1<0,01$ $P_2<0,01$	8,2±1,2 $P_1<0,05$ $P_2<0,05$	40,2±2,1 $P_1<0,001$ $P_2<0,001$	14,2±1,5 $P_1<0,001$ $P_2<0,05$

\*  $P$ —вероятность достоверности различий между контролем (1) и однократным (2) воздействием (1—2);  $P_1$ —то же 1—3;  $P_2$ —то же 2—3

лимфоцитов периферической крови человека отличается широкой вариабельностью и нестабильностью хромосомного набора. Частоты анеуплоидных клеток в обеих экспозициях (включая клетки с полиплоидными наборами хромосом) достоверно отличаются от таковых в контроле. Анеуплоидия в опытах часто определяется элиминацией хромосом из групп.

Количество клеток, как с ненормальной деспирализацией хромосом, приводящей метафазные хромосомы в состояние нитей профазы, так и с нечеткой конфигурацией хромосом, при воздействии ЭМП ЗЧ также достоверно повышено по сравнению с контролем. Полученные результаты свидетельствуют о том, что уровень и длительность кариотипических изменений четко зависят от характера облучения. Степень

изменения кариотипа коррелирует с продолжительностью экспозиции. Так, при ежедневном 5-часовом воздействии ЭМП ЗЧ в течение 3 суток частота метафаз с анеуплоидными (полиплоидными) наборами хромосом достоверно ниже ( $6,9 \pm 1,1\%$  и  $3,5 \pm 0,8\%$ ), чем при однократном воздействии в течение 20 ч в первый день культивации ( $23,2 \pm 2,6\%$  и  $5,8 \pm 1,4\%$ ). Заслуживает внимания и тот факт, что частота клеток с деспирализованными наборами и нечеткой конфигурацией хромосом при ежедневном 5-часовом воздействии ЭМП ЗЧ в течение 3-х суток заметно выше ( $40,2 \pm 2,19\%$  и  $14,2 \pm 1,5\%$ ), чем при воздействии в течение первых 20 ч ( $5,4 \pm 1,4\%$  и  $11,9 \pm 2,0$ ) культивирования лимфоцитов ( $p < 0,01$ ).

Механизмы, приводящие к возникновению изменений хромосомного набора при воздействии ЭМП ЗЧ, остаются неясными. Существуют различные гипотезы и предложения вплоть до идентичности мутагенного действия ЭМП и вирусов [8]. Однако их вряд ли можно считать достаточно аргументированными не только для ЭМП ЗЧ, но и для значительно более высоких частот [1]. Тем не менее нам представляется, что рассмотренные выше данные выдвигают необходимость изучения изменений в генетическом аппарате лимфоцитов после воздействия ЭМП ЗЧ на целостный организм. Не исключено, что этот тест не только окажется важным, но явится и критерием для выработки профессиональных и гигиенических норм для лиц, имеющих контакт с ЭМП различного диапазона частот.

#### ЛИТЕРАТУРА

1. Антинов В. В., Давидов Б. И., Тихончук В. С. Биологические действия ЭМ излучения микроволнового диапазона (Проблемы космической биологии, 40), «Наука», М., 1980.
2. Пресман А. С. Электромагнитные поля и живая природа, «Наука», М., 1968.
3. Heller J. Pat. USA, 195—78, № 3095359, 25, 5, 1963.
4. Michaelson S. M. Sensation and perception of microwave energy. Fundamental and applied aspects of nonionizing radiation, IV—4, London, 1975.
5. Michey C. N. Y. State J. Med., 35, 824, 1963.
6. Moorhead P. Set a. Exper. cell., 3, 613—616, 1960.
7. Sasaki M. S., Miyata H. Nature, 220, 5173, 1968.
8. Stich H. I., van Hooster C. L., Frentin J. J. Exp. Cell Res., 34, 400, 1964.
9. Heller J., Teixeira-Punto A. Nature, 1183, 905, 1959.

### გზერითი სიხშირეების ელექტრომაგნიტური ველის გავლენა ადამიანის კულტივირებაული ლიმფოციტების ქრომოსომალ აპარატზე

ბ. ღუმბაძე

საქართველოს მეცნიერებათა აკადემიის ი. ბერიტაშვილის სახელობის ფიზიოლოგიის ინსტიტუტი, თბილისი

#### რ ე ზ ი უ მ ე

შრომაში ნაჩვენებია, რომ 3,2 კილოჰერცი სიხშირის და 0,88 ერსტედი დაძაბულობის ელექტრომაგნიტური ველის ზემოქმედება ადამიანის პერიფერიული სისხლის ლიმფოციტების კულტივირების პირველი 20 საათის განმავ-

ლობაში, ისევე როგორც ყოველდღიური 5-საათიანი ზემოქმედება კულტივირების პირველი 3 დღის განმავლობაში, მნიშვნელოვნად ზრდის ქრომოსომულ დაზიანებათა რიცხვს, კერძოდ პოლიპლოიდიას, ანეუპლოიდიას, დესპირალიზაციას და ა. შ. განხილულია ამ დაზიანებათა რადიკალიზაციის მახვენიბლები ზემოქმედების ფორმასთან დაკავშირებით.

## ACTION OF ELECTROMAGNETIC FIELD OF SOUND-WAVE FRIQUENCY ON THE CHROMOSOMES OF THE CULTIVATED HUMAN LIMPHOCITES

G. G. DUMBADZE

I. S. Beritaschvili Institute of physiology, Georgian Academy of Sciences, Tbilisi

### S u m m a r y

It is shown that one time action of electromagnetic field (3,2 kHz,  $H=0,88 E$ ) on the first day of cultivation during 20 hours and everyday irradiation for 5 hours during 3 days, increases the friquency of chromosome breacks such as poliploide, aneuploide, despiralization and unclear outline of chromosomes. The quantitative proves of those breacks are suggested dependent on the acting doze of electromagnetic field.

УДК 547.353

БИОФИЗИКА

## К ВОПРОСУ О ПОЛИМЕРИЗАЦИИ АКТИНА

Е. В. Бут

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

Поступила в редакцию 04.02.1981

В статье показано влияние аминокислот лизина и аргинина, а также гистона H1 на процесс полимеризации актина.

Актин выделен из различных тканей животных: сердечная, скелетная и гладкая мускулатура, мозг, тимус, эритроциты, фибробласты и т. д. Белок этот интересен с точки зрения его спиральной полимерной структуры, которая не является «замороженной». Однажды образовавшись *in vitro*, она способна обновлять мономеры в филаментах [24], изменять свою жесткость [19], медленно приходит к статистическому равновесию уже после достижения динамического равновесия между спиральной структурой и мономерами [20].

Другой важной особенностью актина является способность активных мономеров полимеризоваться под действием тех или иных факторов. Это может проявляться в процессе роста фибрилл, в организации и упорядочении структур, возможно, самых различных тканей. Пока не известно, играет ли эта особенность роль в сокращении мышц. Многие так называемые минорные белки мышц оказывают влияние на процесс полимеризации глобул актина и взаимодействуют с Ф-актином. Это — актинины, нативный тропомиозин, тропомиозин, тропонин, С белок [13]. Некоторые из вышеперечисленных белков выделены из немышечных тканей и взаимодействуют с актином *in vitro* аналогично белкам, полученным из мышц. Список белков, способствующих полимеризации актина, пополнился актин-связывающим белком из макрофагов и лейкоцитов [8], спектрином из эритроцитов [10], гельактинами из *Acanthamoeba castellanii* [14], филамином из различных тканей, включая гладкую [25] и скелетную [3] мускулатуру.

Профилин [4] и ДНКазы I [15], напротив, препятствуют полимеризации актина, образуя с Г-актином кристаллические комплексы.

Разнообразие источников, из которых выделен актин и взаимодействующие с ним белки, заставляет думать о его существенной функции в различных клетках. Актину приписывается роль в акросомальном процессе при оплодотворении [5]. При этом он должен полимеризоваться взрывообразно. Комплекс Г-актина с ДНКазой I не обладает ДНКазной активностью, т. е. возможна регуляция ДНКазной активности актином [11].

Накоплен обширный материал, касающийся всевозможных аспектов полимеризации актиновых глобул. Существуют теории полимеризации [7, 20, 24, 19], описывающие экспериментальные факты.

Тем не менее, в процессе полимеризации актина многое не выяснено, особенно с точки зрения молекулярной структуры белка. Некоторые исследователи полагают, что в этом процессе существенную роль играют амидные группы глобул актина [1]. Полимеризующее действие ионов солей приписывается экранированию зарядов на поверхности мономеров [20]. Определенный интерес представляет влияние соединений, содержащих  $\text{NH}_2$ -группы, на полимеризацию актина. Было показано, что полиамины, подобно солям, инициируют полимеризацию актина. Оказалось, что эффективность влияния полиаминов на полимеризацию актина увеличивается с удлинением их молекул [21]. В этой же статье показано, что некоторые аминокислоты либо не инициируют полимеризацию актина, либо в их присутствии она очень мала.

Нас интересовало, будут ли аминокислоты лизин и аргинин влиять на процесс полимеризации актина, инициированный 0,1 М КСI. Многие минорные белки скелетных мышц, особенно локализованные в I—Z—I полосе, не инициируют полимеризацию Г-актина, но сильно влияют на соль-индуцированную полимеризацию.

## МЕТОДИКА

Актин получали из скелетных поперечнополосатых мышц кролика по методу Риса и Янга [22] (за исключением того, что в растворы не добавляли  $\text{CaCl}_2$ ), а также по методу Спудича и Вотта [23] в модификации Нономура [18]. При окончательном диализе препаратов актина концентрация АТФ в методе Спудича была увеличена в 2 раза, что способствовало лучшей деполимеризации актина. После центрифугирования при 100 000—110 000 g в течение 2 ч препараты белка, полученные обоими методами, очищали гельфильтрацией на Сефадексе Г-200. Процесс полимеризации наблюдали по увеличению вязкости растворов актина в вискозиметре типа Оствальда при температуре 20°C. Аминокислоты растворяли либо в воде, либо в соответствующих буферах, pH доводили разбавленной HCl (в случае лизина) и KOH (в случае аргинина). Г-Ф переход инициировали добавлением 3М KCl для получения 0,1 М в растворах Г-актина.

## РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

На рис. 1 изображено влияние лизина на Г-Ф переход актина в среде 0,4 мМ АТФ, 2 мМ Трис-HCl, pH 7,2 на препаратах белка, полученных по несколько модифицированному методу Риса и Янга. Небольшое количество лизина вызывает ускорение процесса полимеризации. По мере увеличения его весового соотношения лизин меняет действие на противоположное. То же самое наблюдается в среде с повышенной молярностью буфера; 20 мМ Трис-HCl, pH 7,5. Небольшая молярность буфера позволяет регистрировать изменение pH растворов белка, связанное с расщеплением АТФ при полимеризации актина. Получена пропорциональная зависимость полупериода Г-Ф превращения от pH растворов актина до и после полимеризации. Пропорциональность свидетельствует, что: во-первых, в основном имеет место полимеризация, а не агрегация актиновых глобул; и, во-вторых, полимеризация идет по типу «голова к хвосту» [24]. В аналогичных условиях (при добавлении лизина) увеличение весового содержания аргинина в среде ускоряет Г-Ф переход актина.



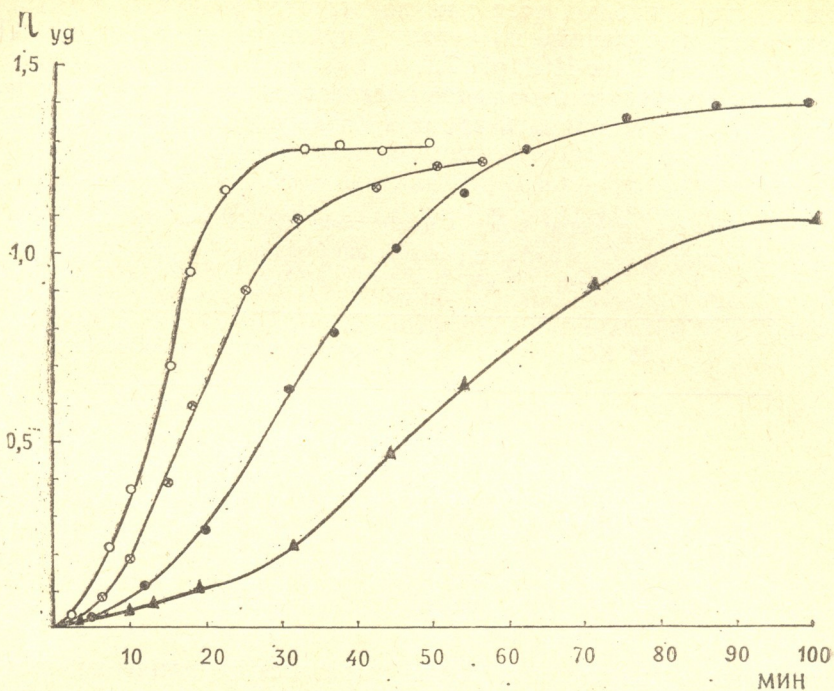


Рис. 1. Влияние лизина на Г-Ф переход актина в среде 0,1 М КСl, 0,4 мМ АТФ, 2 мМ Трис-НСl, рН 7,2 (концентрация—1 мг/мл): (o) — Г-Ф переход актина; (●) — в присутствии 12%; (⊗) — 25%, (▲)—80% лизина соответственно

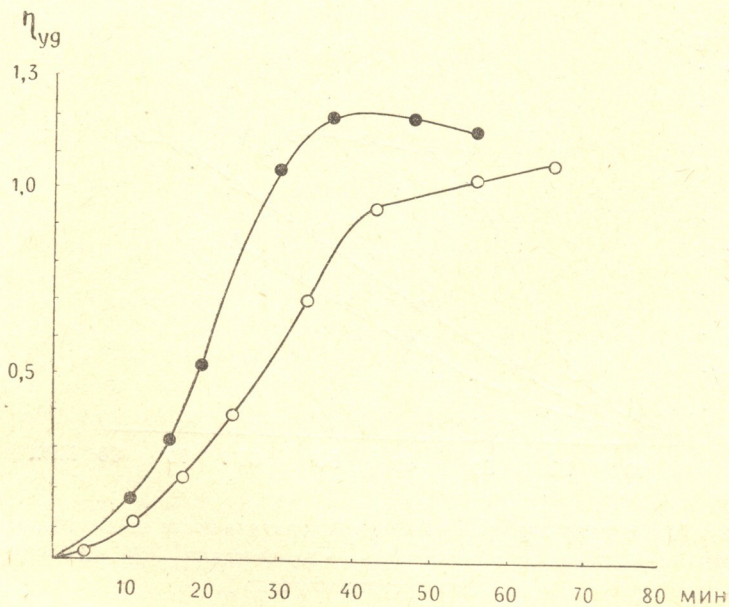


Рис. 2. Влияние лизина на полимеризацию актина в среде 0,1 М КСl, 0,2 мМ АТФ, 0,2 мМ СаСl<sub>2</sub>, 2 мМ Трис-НСl, рН 7,2 (концентрация актина — 0,6 мг/мл): (●)—Г-Ф переход актина; (o) — в присутствии 10% лизина

Иная картина наблюдается при добавлении лизина и аргинина в растворы белка, полученные по методу Спудича в среде 0,2 мМ АТФ, 0,2 мМ CaCl<sub>2</sub>, 2 мМ Трис-НСl, рН 7,2.

Из рис. 2 видно, что небольшое количество лизина затормаживает полимеризацию. Если принять время Г-Ф перехода актина за 100%,

Таблица

Зависимость агрегации актина в присутствии 10% Нl гистона от молярности КСl в растворе (концентрация актина—0,5 мг/мл, среда—25 мМ Трис-НСl, рН 7,5)

М КСl	E <sub>660</sub> (опт. плотность при 660 нм)
0,00	0,220
0,10	0,175
0,15	0,150
0,20	0,125
0,30	0,040
0,60	0,000

то торможение в присутствии лизина выразится в удлинении процесса полимеризации на 25—80% (учитывая разброс данных для различных партий полученных белков). Причем меньшее торможение наблюдается чаще, чем большее. Эффект аргинина в вышеуказанной среде аналогичен действию лизина. Электрофорез в полиакриламидном геле в при-

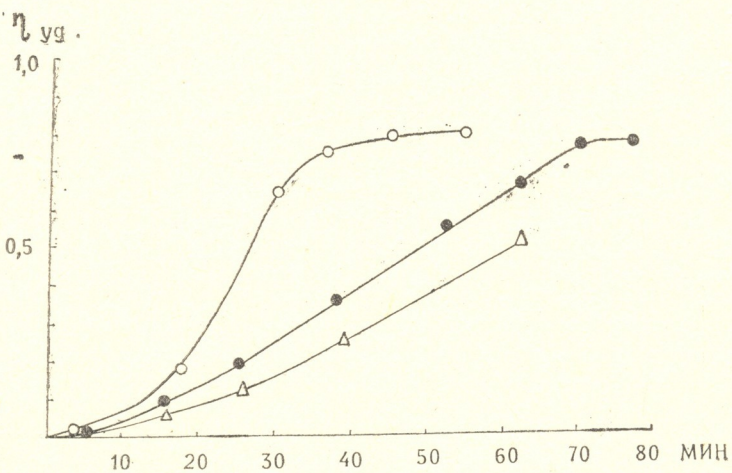


Рис. 3. Влияние лизина на Г-Ф переход актина после диализа белка: (●) — Г-Ф переход актина; (o) — в присутствии 10%, (Δ) — 80% лизина соответственно

сутствии додецилсульфата натрия не обнаруживает разницы в препаратах белка, полученных этими двумя методами. Следовательно, различие влияния лизина и аргинина на полимеризацию актина, полученного двумя вышеуказанными методами, обусловлено средой полимеризации. Действительно, длительный диализ белка, полученного по

методу Слудича (против раствора, содержащего 0,4 мМ АТФ, 2 мМ Трис-НСl, рН 7,5), приводит к тому, что небольшое количество лизина ускоряет полимеризацию (рис. 3).

Мы изучили также влияние гистона НI, содержащего около 30% лизина, на процесс полимеризации актина. Гистон НI при небольшой молярности КСl вызывает агрегацию мономеров актина (таблица), легко осаждающихся при центрифугировании (15—20000 g).

Подобное явление имеет место при связывании гистона с нуклеиновой кислотой [9]. Поэтому в присутствии гистона НI полимеризацию инициировали 0,3 М КСl. Из рис. 4 видно, что присутствие гистона сильно ускоряет полимеризацию актина. Наши данные о влиянии гистона на Г-Ф переход актина несколько отличаются от данных Магри

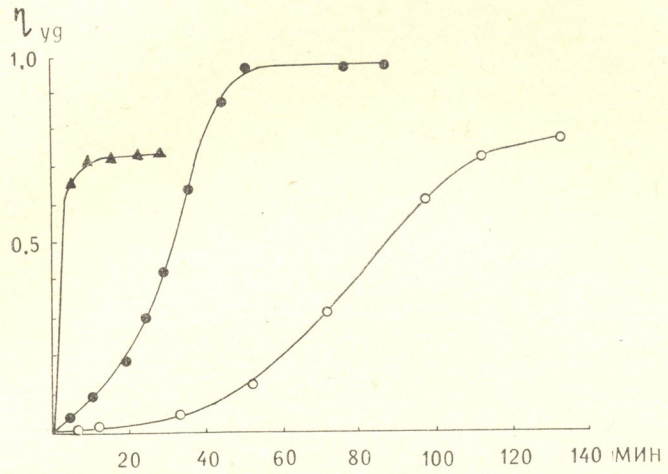


Рис. 4. Ускорение полимеризации актина 10% гистона НI (среда — 25 мМ Трис-НСl, рН 7,5): (●) — в 0,1 М КСl; (○) — в 0,3 М КСl; (▲) — в 0,3 М КСl в присутствии гистона НI

и др. [16]. Так, вследствие агрегации актина, вызванной гистонем НI, не удается проследить полимеризацию актина в 0,1 М КСl, в то время как Магри и др. наблюдали полимеризацию в среде 90 мМ КСl, 20 мМ Трис-НСl, рН 8,0, 40 мк АТФ, 40 мк СаСl<sub>2</sub> и получили аналогичный эффект влияния гистона. Возможно, как и в случае влияния лизина и аргинина, такое отличие происходит вследствие присутствия СаСl<sub>2</sub> в среде полимеризации актина, используемой Магри и др., поскольку известно, что изменение концентрации актина в микромолекулярной области влияет на полимеризацию актина [2, 6] и изменяет действие цитохалазина В на актин [12]. Как и работы других авторов [16, 17], наши данные свидетельствуют о том, что основные белки (аминокислоты) могут влиять на процесс полимеризации актина. Принимает ли гистон непосредственное участие в образовании актиновых волокон [19], покажет будущее.

ЛИТЕРАТУРА

1. Заалишвили М. М. Физико-химические основы мышечной деятельности, «Мецниереба», Тбилиси, 1971.
2. Avissar N., Kaminsky E., Leibovich S. J., Oplata A. Biochim. Biophys. Acta, 577, 267—272, 1979.

3. Bechtel P. J. J. Biol. Chem., 254, 1755—1759, 1979.
4. Carlsson L., Muström L. E., Lindberg U., Kannan K. K., Ciol-Dresdner H., Lövgren S., Jörnvall H. J. Mol. Biol., 105, 353—366, 1978.
5. Cohen C. Trends in Biochem. Sci., 2, 50—55, 1977.
6. Dancker P., Löf I. Biochem. Biophys. Acta, 484, 169—176, 1977.
7. Engel J., Wegner A. Studia Biophys., 57, 179—184, 1975.
8. Hartwig J., Stossel T. J. Biol. Chem., 250, 5696—5705, 1975.
9. Haang R. C., Bonner L., Hurray K. J. Mol. Biol., 8, 54—69, 1964.
10. Kirkpatrick F. H. Biochem. Biophys. Res. Commun., 69, 225—229, 1976.
11. Korn E. D. Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 75, 588—599, 1978, 1976.
12. Löf I., Dancker P. Biochim. Biophys. Acta, 430, 366—374, 1976.
13. Moos C., Mason C. M., Besterman J. M., Feng I.-Nan M., Dubin J. H. J. Mol. Biol., 124, 571—586, 1978.
14. Maruta H., Korn E. D. J. Biol. Chem., 252, 399—402, 1977.
15. Mannherz H. G., Kabsch W., Leberman FEBS Lett., 73, 141—143, 1977.
16. Magri E., Zaccarini M., Grazi E. Biophys. Biochem. Res. Commun., 85, 35—41, 1978.
17. Magri E., Zaccarini M., Enrico G. Biophys. Biochem. Res. Commun., 82, 1207—1210, 1978.
18. Nonomura Y., Katagama E., Ebashi S. J. Biochem., 78, 1101—1104, 1975.
19. Oosawa F., Fujine S., Ishiwata S., Mihashi K. Cold Spring Harbor. Symp. on Quant. Biol., 37, 1973, 277—285.
20. Oosawa K., Kasai M. Biological Macromolecules, Series 5, Subunits in Biological Systems, part A, ch. 6, 261—322, 1971.
21. Oriol-Audit Ch. Europ. J. Biochem., 87, 371—376, 1978.
22. Rees M. K., Young M. M. J. Biol. Chem., 242, 4449—4458, 1967.
23. Spudich S. A., Watt S. J. Biol. Chem., 246, 4866—4871, 1971.
24. Wegher A. J. Mol. Biol., 108, 139—150, 1976.
25. Wallach D., Davis P., Pastan J. J. Biol. Chem., 253, 3328—3335, 1978.

## აქტინის პოლიმერიზაციის შესახებ

ე. ბუბი

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

რ ე ზ ი უ მ ე

სტატიაში ნაჩვენებია ლიზინისა და არგინინის გავლენა 0,1 M KCl-ში აქტინის პოლიმერიზაციის პროცესზე, აგრეთვე 0,3 M KCl-ში გ-F გადასვლის დაჩქარება H1 ჰისტონის მოქმედებით. KCl-ის ნაკლები კონცენტრაციისას აღინიშნება H1 ჰისტონით გამოწვეული აქტინის ძლიერი აგრეგაცია.

# ON THE ACTIN POLYMERIZATION



E. V. BUT

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

## S u m m a r y

The influence of basic amino acids lysine and arginine, on the polymerization of actin of skeletal muscle was studied in the presence of 0.1 M KCl. It is established that histone H1 increases the rate of G-F transition of actin initiated by 0.3 M KCL. At less concentration of KCL or in its absence a heavy aggregation of actin initiated by histone H1 was observed.

УДК 612(616.12+517.15)

БИОФИЗИКА

**ТРАНСПОРТ ИОНОВ  $Ca$  В ФРАГМЕНТИРОВАННОМ  
САРКОПЛАЗМАТИЧЕСКОМ РЕТИКУЛУМЕ И МИТОХОНДРИЯХ,  
А ТАКЖЕ АКТИВНОСТЬ ПРОТЕИНКИНАЗЫ И  
АДЕНИЛАТЦИКЛАЗНОЙ СИСТЕМЫ МИКРОСОМ МЫШЦЫ  
СЕРДЦА ПРИ 10-ДНЕВНОМ ТОКСИКО-АЛЛЕРГИЧЕСКОМ  
МИОКАРДИТЕ**

**Н. В. Карсанов, З. Г. Хугашвили, Н. О. Эдишерашвили, Р. В. Узунян**

*Республиканский научно-исследовательский центр медицинской биофизики МЗ ГССР,  
Тбилиси*

Поступила в редакцию 16.03.1981

В опытах на кроликах установлено, что при токсико-аллергическом миокардите снижается транспорт  $Ca^{2+}$  в фрагментированный саркоплазматический ретикулум и значительно уменьшается его высвобождение. При этом наблюдается снижение фосфорилирования белков мембран и сдвиг в системе аденилатциклазы, свидетельствующий о повышении ее чувствительности к миоплазматическому  $Ca^{2+}$ . Скорость поглощения  $Ca^{2+}$  митохондриями возрастает.

Делается заключение, что в основе недостаточности сократительной функции миокарда при ТАМ лежит не только снижение энергообеспечения и повреждение системы контрактильных белков, но и поражение системы регулирования силы сокращения и расслабления миокардиальной клетки.

Ранее [9] было показано, что из трех систем миокардиальной клетки — системы энергетического обеспечения, системы преобразования химической энергии в механическую работу и системы сопряжения возбуждения с сокращением и регулирования силы сокращения, а также расслабления миокарда, осуществляющих акт «сокращение-расслабление» — первые две системы при ТАМ\* поражаются в одинаково резкой степени.

В настоящей работе мы приводим данные, свидетельствующие о выраженных нарушениях при ТАМ и в третьей системе.

---

\* Принятые сокращения: цАМФ — циклическая аденозинмонофосфорная кислота, АЦ — аденилатциклаза, ПК — протеинкиназа, СР — саркоплазматический ретикулум, ТАМ — токсико-аллергический миокардит, ТХУ — трихлоруксусная кислота, ФСР — фрагментированный саркоплазматический ретикулум, ФДЭ — фосфодиэстераза, ЭГТА — этиленгликоль-бис-(2-аминоэтиловый эфир) —  $N, N, N', N'$  — тетрауксусная кислота.

## МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ

Опыты проведены на 31 кролике породы шиншилла обоего пола, массой 2,5—3,9 кг. Изучены группы интактных животных и животных с 10-дневным ТАМ, который вызывался по ранее использованному методу [9]. Из них на 21 кролике (12 контрольных, 9 опытных) изучен транспорт  $\text{Ca}^{2+}$  в ФСР и митохондриях, а на 10 (5 контрольных, 5 опытных) — активность протеинкиназы и ферментов аденилатциклазной системы ФСР.

Выделение ФСР, а также определение связывания и поглощения  $\text{Ca}^{2+}$  проводили по методу С. Харигая и А. Шварца [29], используя радиоактивный  $^{45}\text{Ca}$  и технику миллипоровой фильтрации (диаметр пор 0,45 мкм). В случае исследования связывания  $\text{Ca}^{2+}$  в инкубационную среду добавляли 10, а в случае поглощения его — 50 и 100 мкМ  $^{45}\text{CaCl}_2$ . Отсутствие загрязнения препаратов ФСР мембранами митохондрий контролировали путем определения поглощения  $\text{Ca}^{2+}$  в присутствии азида натрия.

Са-АТФазную активность ФСР измеряли по Г. Инези, Дж. А. Коен и К. К. Коан [30], при этом количество высвобождаемого фосфора определяли по Я. Х. Туракулову [21].

Выброс  $^{45}\text{Ca}^{2+}$  из предварительно нагруженных по вышеуказанному методу пузырьков ФСР вызывали добавлением 2,5 мМ ЭГТА [34] на 40—45 мин поглощения (в условиях устойчивого равновесия, когда количество входящего кальция равно количеству выходящего).

Митохондрии выделяли по методу Е. Карафоли и А. Л. Ленинджера [23], а поглощение  $^{45}\text{Ca}^{2+}$  митохондриями (в присутствии неорганического фосфата и сукцината натрия) проводили согласно методу П. В. Сулаке и Н. С. Дала [41].

ФСР для исследования ферментов системы цАМФ выделяли по В. А. Ткачуку, В. Б. Ритову и С. Е. Северину [20].

Активность АЦ и ФДЭ исследовали изотопным методом в среде с использованием в качестве субстратов  $^{14}\text{C}$ -АТФ и  $^3\text{H}$ -цАМФ соответственно [18, 5]. Влияние  $\text{Ca}^{2+}$  на активность ФДЭ определяли путем внесения в инкубационную среду  $10^{-4}$  М  $\text{CaCl}_2$ .

Измерение связывания цАМФ ФСР проводили по Ткачуку с соавт. [20].

Активность ПК ФСР определяли по Е. Миямото и Дж. Ф. Куо [37] с той разницей, что осадок, полученный в результате добавления в среду инкубации 50% ТХУ, подвергали промыванию сначала 25%, а затем 10% ТХУ. После этого его растворяли в 0,5 н NaOH и просчитывали на радиоактивность (использовался  $\gamma$ - $^{32}\text{P}$ -АТФ).

Для изучения влияния экзогенной ПК на фосфорилирование ФСР в инкубационную среду вносили ПК, выделенную из скелетной мышцы [28].

Радиоактивность считали на жидкостно-сцинтилляционном счетчике «Дельта-300» или «Марк-2».

Реактивы:  $^{45}\text{CaCl}_2$  — В/О «Изотоп»; цАМФ, АМФ, АТФ, гистидин — фирмы «Реанал» (Венгрия);  $^{14}\text{C}$ -АТФ (ЧССР);  $\gamma$ - $^{32}\text{P}$ -АТФ,  $^3\text{H}$ -цАМФ — фирмы «Амершам» (Англия), ЭГТА — фирмы «Ферак» (Западный Берлин); лошадиная сыворотка Харьковского предприятия по производству бактериальных препаратов; стафилококковый токсин производства Института эпидемиологии и микробиологии АМН СССР им. Н. Ф. Гамалея (серия 2768, Lh=0,16).

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Транспорт  $\text{Ca}^{2+}$  через мембраны ФСР и митохондрии. На десятый день развития ТАМ имеет место существенное снижение способности ФСР связывать  $\text{Ca}^{2+}$  (на 30% меньше, чем в контроле) — рис. 1А.

Одновременно с уменьшением  $\text{Ca}^{2+}$ -связывающей способности ФСР при ТАМ происходит снижение скорости поглощения  $\text{Ca}^{2+}$  (в присутствии 5 мМ оксалата калия) и уменьшение кальциевой «емко-

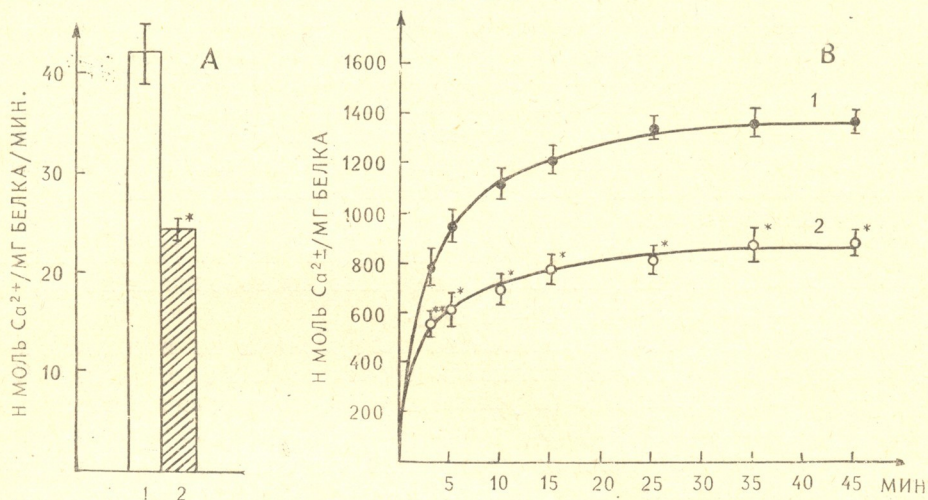


Рис. 1. А—связывание  $\text{Ca}^{2+}$  ФСР миокарда кроликов в норме (1) и при 10-дневном ТАМ (2). Среда инкубации: 0,1 М КСI, 10 мМ  $\text{MgCl}_2$ , 20 мМ трис-малеатный буфер (рН 6,8), 2 мМ АТФ— $\text{Na}_2$ , 10 мкМ  $^{45}\text{CaCl}_2$ , мкгросомы—0,1—0,2 мг/мл ( $37^\circ\text{C}$ ). В—кинетика поглощения  $\text{Ca}^{2+}$  ФСР миокарда кроликов в норме (1) и при 10-дневном ТАМ (2). Состав среды инкубации тот же, что и в А, но содержание  $^{45}\text{CaCl}_2$  увеличено до 50 мкМ и добавлено 5 мМ оксалата калия; микросомы—0,02—0,05 мг/мл ( $37^\circ\text{C}$ )

сти» пузырьков (рис. 1В) (выражено в одинаковой степени как при добавлении в инкубационную среду 50, так 100 мкМ  $\text{Ca}^{2+}$ ). В результате к 45 мин ФСР миокарда больных животных поглощает на 35% меньше  $\text{Ca}^{2+}$ , чем ФСР миокарда контрольных ( $P < 0,001$ ). При этом Са-АТФазная активность не снижается, а имеет тенденцию к возрастанию ( $0,290 \pm 0,063$  мкМ  $\text{P}_n$  в мин, при норме —  $0,206 \pm 0,049$ ,  $n$  в обеих группах равно 5,  $P$  — недостоверно).

Изучение ЭГТА-индуцируемого освобождения  $\text{Ca}^{2+}$  из предварительно «нагруженных» пузырьков ФСР («нагрузка» производилась 50 мкМ  $^{45}\text{CaCl}_2$ ) показало, что в случае интактных животных под влиянием ЭГТА за 2,5 мин освобождается около 21,6% предварительно поглощенного  $\text{Ca}^{2+}$ , в то время как ФСР, выделенный из миокарда больных животных, освобождает только 16,6% (рис. 2). Расчет показывает, что в целом величина освобождаемого  $\text{Ca}^{2+}$  при 10-дневном ТАМ на 47% меньше нормального значения  $P < 0,01$ .

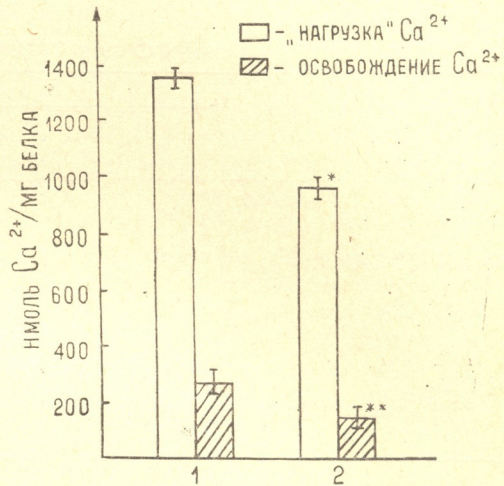
Поглощение  $\text{Ca}^{2+}$  митохондриями миокарда больных животных, в отличие от ФСР, не уменьшается, а наоборот возрастает: на 5 мин — 59%, на 15 мин — 24% и на 30 мин — 20% (рис. 3).

Активность цАМФ-зависимой ПК и ферментов АЦ системы. ПК активность ФСР миокарда нормальных животных характеризуется



сравнительно небольшой величиной (табл. 1). Добавление в инкубационную среду цАМФ существенно не изменяет уровень фосфорилирования белков ФСР (всего на 6,7%). Внесение же экзогенной цАМФ-зависимой ПК и особенно ПК и цАМФ вызывает резкое повышение процесса фосфорилирования — соответственно на 209 и 300% (табл. 1).

Рис. 2. Освобождение кальция из ФСР миокарда кроликов в норме (1) и при 10-дневном ТАМ (2). Состав среды тот же, что и на рис. 1В. Освобождение  $\text{Ca}^{2+}$  инициировали 2,5 мМ ЭГТА



При ТАМ фосфорилирование белков ФСР эндогенной ПК снижено на 68%. Внесение цАМФ в среду инкубации, как и добавление экзогенной ПК, существенно не влияет на его интенсивность. Одновремен-

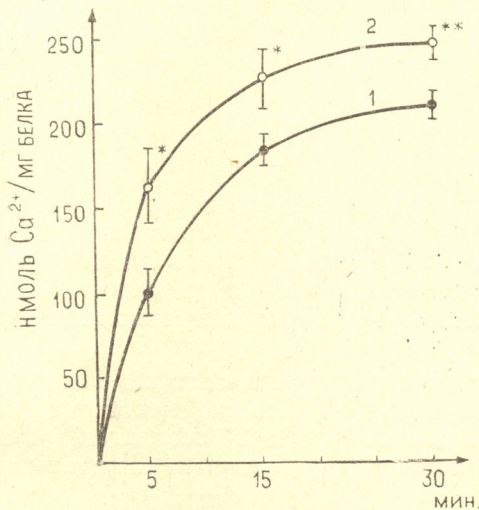


Рис. 3. Кинетика поглощения  $\text{Ca}^{2+}$  митохондриями миокарда кроликов в норме (1) и при 10-дневном ТАМ (2). Состав среды инкубации тот же, что и на рис. 1А, но содержание  $^{45}\text{CaCl}_2$  увеличено до 100 мкМ и дополнительно введены 5 мМ сукцината натрия 4 мМ рН, митохондрии—0,1—0,3 мг/мл

ное же внесение ПК и цАМФ приводит к усилению процесса фосфорилирования, однако уровень его не достигает даже нормальной величины (табл. 1).

Преинкубация ФСР с  $10^{-6}$  М цАМФ при ТАМ увеличивает связывание цАМФ на 54,2% (табл. 2).

Удельная активность аденилатциклазы ФСР миокарда (в норме характеризуется небольшой величиной) при ТАМ уменьшается на 37% (но это снижение недостоверно из-за большого разброса данных) (табл. 2).

Удельная активность мембранно-связанной ФДЭ при ТАМ также понижается (на 26%) (табл. 2). Однако  $\text{Ca}^{2+}$  вместо ингибирования ФДЭ, как это происходит в норме (по нашим измерениям ФДЭ ФСР нормального миокарда ингибируется на 36%), активирует ее на 60% (табл. 2).

Таблица 1

Включение  $^{32}\text{P}$  в белки ФСР при ТАМ под влиянием цАМФ и ПК ( $M \pm m$ )

Группа	пмоль $^{32}\text{P}$ /мг белка в 1 мин			
	—	+цАМФ	+ПК	+ПК+цАМФ
Контроль ( $n=5$ )	194 ± 14,8	207 ± 40,9	601 ± 89,2	782 ± 88,3
10-дневный ТАМ ( $n=5$ )	131 ± 26,0*	121 ± 21,7	79,24,4*	175 ± 48,8*

\* $P < 0,05$

Таблица 2

Удельная активность АЦ и ФДЭ, а также количество связанной цАМФ ФСР миокарда при ТАМ ( $M \pm m$ )

Группа	Связанная цАМФ, пмоль цАМФ/мг белка	пмоль цАМФ/мг белка в 1 мин		
		АЦ	ФДЭ	
			—	$\text{CaCl}_2$
Контроль ( $n=5$ )	0,35 ± 0,038	0,22 ± 0,12	178 ± 25,1	114 ± 19,4
ТАМ ( $n=5$ )	0,54 ± 0,240**	0,14 ± 0,01	132 ± 39,4	212 ± 26,4*

\* $P < 0,05$ , \*\* $P < 0,02$

### ОБСУЖДЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ

Таким образом, в период большой выраженности токсико-аллергического поражения мышцы сердца [9] на треть снижается  $\text{Ca}^{2+}$ -связывающая способность ФСР и больше чем на треть уменьшается способность его поглощать  $\text{Ca}^{2+}$  в присутствии оксалата калия. Аналогичные данные получены при тяжелом бактериальном эндокардите [44].

Однако ФСР при ТАМ не только меньше связывает и меньше поглощает  $\text{Ca}^{2+}$ . В ответ на внесение в среду ЭГТА он высвобождает и значительно меньшую часть поглощенного  $\text{Ca}^{2+}$ . В результате ФСР при ТАМ выбрасывает в два раза меньше  $\text{Ca}^{2+}$ , чем ФСР нормального миокарда.

Эти два процесса *in vivo*, по-видимому, сбалансированы, и накопления кальция в СР при ТАМ не происходит. Наоборот, содержание его, по еще не опубликованным предварительным данным (Н. В. Карсанов, Л. Д. Мамулашвили, З. Г. Хугашвили), в ФСР при ТАМ ниже нормального значения.

В условиях целостной клетки (*resp.* целого сердца) такое нарушение функционального состояния СР неминуемо будет приводить если не к нарушению пуска сократительного процесса, осуществляемого

электрогенным входом  $\text{Ca}^{2+}$  из внеклеточной среды\* (тригерный кальций) [26], то, безусловно, к падению силы сокращения — соответственно уменьшению поступления  $\text{Ca}^{2+}$  в миоплазму через сарколемму, из СР и, возможно, митохондрий [1, 8, 15], а, в конечном результате, количеству депрессированных участков взаимодействия актиновых и миозиновых протофибрилл [7, 27], количеству «включенных» [45], активированных функциональных единиц в актиновой протофибрилле [14].

Уменьшение скорости и величины связывания и поглощения  $\text{Ca}^{2+}$  СР должно приводить к нарушению процесса расслабления. Однако возникает вопрос, насколько будет проявляться этот дефект, если ФСР отражает состояние СР *in vivo* и оно свидетельствует об уменьшении способности СР выбрасывать кальций? Это предстоит еще выяснить.

Снижение секвестрации  $\text{Ca}^{2+}$  СР может быть вызвано уменьшением активности Са-АТФазы мембран. Однако при ТАМ уменьшение связывания и поглощения  $\text{Ca}^{2+}$  ФСР протекает на фоне тенденции к ее повышению. Такое разобщение Са-АТФазной активности и интенсивности транспорта  $\text{Ca}^{2+}$  ФСР наблюдалось и при тяжелом бактериальном эндокардите [44], наследственной кардиомиопатии хомяков [41], а также при недостаточности сердца у людей [36]. Это ставит вопрос о возможной роли жирных кислот в качестве разобщителей [6], содержание которых при адреналиновом миокардите, например, увеличивается в 1,5—2 раза [22].

В основе снижения функциональной активности кальциевого насоса может лежать и дефицит АТФ. Однако выраженный дефицит энергии при воспалительных повреждениях мышцы сердца [9] обусловлен повреждением митохондрий [10] и нарушением в них окислительного фосфорилирования [3], а СР для покрытия своих энергетических потребностей использует, по-видимому, АТФ, образованный в процессе гликолиза [15, 25], усиленный при воспалительных повреждениях мышцы сердца. К тому же существует мощная система регенерации АТФ, сопряженная с Са-насосом [13].

Наконец, причиной уменьшения транспортной функции Са-насоса может быть снижение цАМФ-зависимого фосфорилирования СР эндогенной (нерастворимой) ПК — установлена тесная зависимость интенсивности возрастания поглощения  $\text{Ca}^{2+}$  ФСР от степени фосфорилируемости ее мембран, точнее белка с м. в.  $22 \cdot 10^3$  дальтон — фосфоламбана\*\* [11, 13, 32, 42]. Дефосфорилирование его приводит к обратному явлению [33]. Высвобождение кальция из микросом, которое также осуществляется  $\text{Ca}^{2+}$ -зависимой АТФазой и стимулируется низкими концентрациями внешнего кальция, тоже сопряжено с цАМФ-зависимым фосфорилированием мембран микросом [34].

При ТАМ, как это следует из наших данных, нарушается именно фосфорилирование белков СР.

\* В сердечной клетке, в отличие от поперечно-полосатой (где весь  $\text{Ca}^{2+}$ , необходимый для полной активации миофибрилл, в миоплазму высвобождается из мощного СР), часть кальция поступает из внеклеточной среды [8]. Однако недавно высказана мысль [31], обоснованная соответствующими доводами, что сердечной клетке нет необходимости коренным образом менять онтогенетически сложившийся механизм пуска и регулирования сократительного процесса.

\*\* В очищенной фракции микросом присутствует и второй фосфорилирующийся белок с м. в. 15 000, названный фосфоламбаном II [13]. Его физиологическая роль пока не установлена.

Фосфорилирование белков СР — цАМФ-зависимый процесс, поэтому снижение его может быть вызвано нарушениями в системе АЦ.

При ТАМ имеет место, хотя недостоверное (из-за большого разброса данных в контрольной группе), но выраженное снижение активности АЦ ФСР, по-видимому, отражающее понижение активности эндогенной, мембранно-связанной АЦ СР [24, 38, 39]. Это согласуется с понижением АЦ сарколеммы при бактериальной кардиомиопатии [44].

Активность ФДЭ, расщепляющей цАМФ до АМФ, при ТАМ также значительно понижена (но опять-таки недостаточно). Однако под влиянием  $\text{Ca}^{2+}$  ( $10^{-4}$  М) вместо ингибирования (на 36% в контроле) она возрастает в 1,6 раза.

Это может быть обусловлено повышением содержания  $\text{Ca}^{2+}$ -связывающего белкового активатора ФДЭ, стимулирующего активность ФДЭ-I (чувствительна к активирующему действию  $\text{Ca}^{2+}$ ) и снимающего ингибирующее действие  $\text{Ca}^{2+}$  на ФДЭ-II [12, 19]. Все это, по-видимому, при ТАМ свидетельствует о сдвиге в системе АЦ в сторону снижения ее чувствительности к внешним воздействиям (по-видимому, в результате соединения этого же термостабильного активатора с АЦ сарколеммы) и повышения к внутренним — уровню цитоплазматического  $\text{Ca}^{2+}$  [17]. Такому сдвигу С. Е. Северин и В. А. Ткачук [17] придают большое защитное значение при снижении активности СР или повышении проницаемости наружных мембран для кальция.

Нами показано, что экзогенная ПК, в норме резко активирующая фосфорилирование белков ФСР, в случае ТАМ эффекта не дает. Лишь одновременное внесение ПК и цАМФ вызывает некоторое его активирование, которое, однако, не достигает при этом даже нормального уровня и отстает от фосфорилирования, наблюдаемого в норме под влиянием одной лишь ПК, более чем в три раза, а от фосфорилирования, проходящего при одновременном внесении ПК и цАМФ, более чем в 4,5 раза. И это несмотря на увеличение мест связывания цАМФ с мембранами ФСР (цАМФ связывается с регуляторной субъединицей ПК [2, 35]).

Все это свидетельствует о том, что уменьшение фосфорилирования, по-видимому, не связано с уменьшением или изменением свойств холофермента, а может быть обусловлено изменением активности модулятора цАМФ-зависимой протеинкиназы, ингибирующей фосфорилирование регуляторного белка Са-насоса фосфоламбана [43]. Однако этот вопрос требует дальнейших исследований.

Повышение поглощения  $^{45}\text{Ca}^{2+}$  митохондриями, наблюдавшееся нами, по-видимому, имеет компенсаторное значение. По предварительным, но еще не опубликованным данным, оно не сопровождается увеличением содержания эндогенного  $\text{Ca}^{2+}$  в митохондриях, количество которого на единицу белка при ТАМ оказалось уменьшенным. Это свидетельствует об освобождении  $\text{Ca}^{2+}$  из митохондрий не в меньших количествах, чем при поглощении, и согласуется с данными об уменьшении поглощения  $\text{Ca}^{2+}$  и повышении его освобождения при застойной недостаточности сердца [40].

Ускорение обменяемости  $\text{Ca}^{2+}$  в митохондриях и ФСР (правда, на фоне повышения его содержания в митохондриях) наблюдалось и при адреналиновом и аллергических поражениях миокарда 7-дневной продолжительности [4].

Если суть наших предварительных данных, свидетельствующих об уменьшении содержания  $\text{Ca}^{2+}$  в митохондриях, останется неизменной, то это будет означать, что при ТАМ не происходит развития «каль-



цовой триады» [16]. Более того, вполне вероятно, что АЦ активность сарколеммы при ТАМ окажется сниженной, как и при бактериальной кардиомиопатии [44]. В этом случае вполне реальным должно быть снижение фосфорилирования белков сарколеммы и, как следствие этого, уменьшение электрогенного входа  $Ca^{2+}$  в миоплазму из внеклеточной среды.

Таким образом, сегодня мы можем сделать заключение, что в основе недостаточности сократительной функции сердца при ТАМ лежит поражение не только систем энергообеспечения и трансформации химической энергии в механическую работу [9], но в равной степени и системы пуска и внутриклеточного регулирования силы сокращения, а также расслабления миокарда.

По-видимому, нарушение функционирования всех трех систем лежит и в основе недостаточности сократительной функции миокарда у людей при выраженных воспалительных повреждениях мышцы сердца, что и обуславливает (при этих поражениях миокарда) особо тяжелые формы недостаточности сердца, как правило, рефрактерные к традиционному лечению с применением сердечных гликозидов.

#### ЛИТЕРАТУРА

1. Алнев М. К., Левицкий Д. О., Помойницкий В. Д., Сакс В. А., Селезнев Ю. М. Бюлл. ВКНЦ АМН СССР, 11, 2, 7—21, 1979.
2. Булгарина Т. В., Васильев В. Ю., Северин Е. С. В сб.: Циклические нуклеотиды, «Наука», М., 1979, 31—45.
3. Гроздова М. Д., Северин С. Е. В сб.: Моделирование заболеваний, «Медицина», М., 1973, 202—222.
4. Гроздова М. Д., Шарлова И. Л., Старостина Л. К. Вopr. мед. химии, XXIII, 6, 735—741, 1977.
5. Давыдова С. Я., Ветчинина С. С. Вopr. мед. химии, XXIV, 5, 652—656, 1977.
6. Есырев О. В., Ритов В. Б., Успанова Ж. К., Мурзахметова М. К., Нусупова Ж. А. Биохимия, 45, 1, 103—107, 1980.
7. Заалишвили М. М. Физико-химические основы мышечной деятельности, «Мецинереба», Тбилиси, 1971.
8. Капелько В. И. Бюлл. ВКНЦ АМН СССР, 11, 2, 88—110, 1979.
9. Карсанов Н. В., Капанадзе Р. В., Селихова Е. В., Убери Н. П. Изв. АН ГССР, сер. биол., 6, 5, 429—439, 1980.
10. Карсанов Н. В., Лацабидзе И. Л., Селихова Е. В. В сб.: Ультраструктура сердечно-сосудистой системы в норме и патологии (Мат. симп.), «Мецинереба», Тбилиси, 1976, 84—85.
11. Курский М. Д., Кондратюк Т. Т. Укр. биохим. журн., 52, 4, 525—538, 1980.
12. Лазаревич В. Г., Меньшиков М. Ю., Ткачук В. А. Биохимия, 44, 10, 1942—1951, 1979.
13. Левицкий Д. О., Левченко Т. С., Сакс В. А., Смирнов В. Н., Виль Х., Волленбергер А. В сб.: Метаболизм миокарда. Мат. III Советско-американского симп. (9—11 мая 1977 г., Вильямсбург США), «Медицина», М., 1979, 97—106.
14. Леднев В. В. В сб.: Структурные основы и регуляция биологической подвижности, «Наука», М., 1980, 221—270.
15. Меерсон Ф. З. Адаптация сердца к большой нагрузке и сердечная недостаточность, «Наука», М., 1975.
16. Меерсон Ф. З., Уголев А. А. Кардиология, XX, 1, 68—75, 1980.



17. Северин С. Е., Ткачук В. А. В сб.: Метаболизм миокарда. Мат. I Межд.-американского симп. (9—11 мая 1977 г., Вильямсбург, США), «Медицина», М., 54—70, 1979.
18. Ткачук В. А., Балденков Т. Н. Биохимия, 43, 6, 1097—1109, 1978.
19. Ткачук В. А., Лазаревич В. Г., Меньшиков М. Ю., Северин С. Е. Биохимия, 43, 9, 1622—1629, 1978.
20. Ткачук В. А., Титов В. Б., Северин С. А. Биохимия, 41, 9, 1704—1711, 1976.
21. Туракулов Я. Х., Кургульцева Л. И., Гагельганц А. И. Биохимия, 32, 1, 106—110, 1967.
22. Шабанова И. А. Вopr. мед. химии, X, 3, 185—189, 1964.
23. Carafoli E., Lehninger A. L. Biochem. J., 122, 5, 681—690, 1971.
24. Dhalla N. S., Ziegelhoffer A., Harrow J. A. C. Can. J. Physiol. Pharmacol., 55, 6, 1211—1234, 1977.
25. Entman M., Kaniike K., Goldstein M., Nelson T., Borner E., Futch T., Schwartz A., J. Biol. Chem., 251, 10, 3140—3146, 1976.
26. Fabiato A., Fabiato F. Circulat. Res., 40, 2, 119—129, 1977.
27. Gergely J. Fed. Proc., 35, 6, 1283—1287, 1976.
28. Gilman A. G. Proc. Nat. Acad. Sci. USA, 67, 305—312, 1970.
29. Harigaya S., Schwartz A. Circulat. Res., 25, 6, 784—794, 1969.
30. Inesi G., Cohen J. A., Coan C. K. Biochemistry, 15, 24, 5293—5298, 1976.
31. Kaufmann R. Progr. Pharmacol., 2, 1, 25—30, 1978.
32. Kirchberger M. A., Chu G. Biochem. Biophys. Acta, 419, 559—562, 1976.
33. Kirchberger M. A., Raffo A. J. Cycl. Nucleotide Res., 3, 45—53, 1977.
34. Kirchberger M. A., Wong D. J. Biol. Chem., 253, 19, 6941—6945, 1978.
35. Krebs E. G. Curr. Top. Cell Regul., 5, 99—133, 1972.
36. Lentz R., Harrison C., Dewey. J. Mol. Cell Cardiol., 10, 1, 3—30, 1978.
37. Miyamoto E., Kuo J. F., Grengard P. J. Biol. Chem., 244, 23, 6395—6402, 1969.
38. Ong S. H., Steiner A. L. Science, 195, 4274, 183—185, 1977.
39. Slazak J., Shuman H., Geller S. A., Tribulova N. J. Mol. Cell Cardiol., 12, suppl. 1, 156, 1980.
40. Sordahl L. A., McCollum W. B., Wood W. G. Amer. J. Physiol., 224, 3, 497—502, 1973.
41. Sulakhe P. V., Dhalla N. S. J. Clin. Invest., 50, 1019—1027, 1971.
42. Tada M., Kirchberger M. A., Katz A. M. J. Biol. Chem., 250, 2640—2647, 1975.
43. Tada M., Ohmori F., Nimura J. J. Biochem., 82, 3, 885—892, 1977.
44. Tomlinson C. W., Lee S. L., Dhalla N. S. Circulat. Res., 39, 1, 82—92, 1976.
45. Weber A., Murray J. M. Physiol. Rev., 53, 612—673, 1973.

კალციუმის იონების ტრანსპორტი გულის კუნთის  
ფრაგმენტირებულ სარკოპლაზმურ რეტიკულუმსა და  
მიტოქონდრიაში, აგრეთვე პროტეინკინაზისა და  
ადენილაციკლაზური სისტემის აქტივობა მიოკარდიუმში  
10-დღიანი ტოქსიკურ-ალერგიული მიოკარდიტის დროს

ნ. კარსანოვი, ზ. ხუგაშვილი, ნ. ედიშერაშვილი, რ. უზუნჯანი

საქართველოს სსრ ჯანმრთელობის დაცვის სამინისტროს ბიოფიზიკის  
რესპუბლიკური სამეცნიერო-კვლევითი ცენტრი, თბილისი

## რ ე ზ ი უ მ ე

ბოცვრებზე ჩატარებული ცდებით გამოირკვა, რომ ტოქსიკურ-ალერგიული მიოკარდიტის დროს ფრაგმენტირებულ სარკოპლაზმურ რეტიკულუმში ქვეითდება კალციუმის იონების ტრანსპორტი და მნიშვნელოვნად მცირდება მისი გამოთავისუფლება სარკოპლაზმური რეტიკულუმიდან. ამასთან ერთად მცირდება მემბრანული ცილების ფოსფორილირება, ხოლო ადენილაციკლაზური სისტემაში აღინიშნება ცვლილებები, რაც იმის მანიშნებელია, რომ მატულობს ამ სისტემის მგრძობელობა მიოპლაზმური კალციუმისადმი. აგრეთვე იზრდება მიტოქონდრიების მიერ კალციუმის შთანქმის სიჩქარე.

უნდა დავასკვნათ, რომ ტოქსიკურ-ალერგიული მიოკარდიტის დროს მიოკარდის შეკუმშვის ფუნქციის უკმარისობის მიზეზია არა მარტო ის, რომ ქვეითდება მიოკარდის ენერგიით მომარაგება და ზიანდება კუნთის შეკუმშვაში მონაწილე ცილების სისტემა, არამედ ისიც, რომ ზიანდება მიოკარდის შეკუმშვის ძალისა და მოდუნების მომწესრიგებელი სისტემაც.

## Ca ION TRANSPORT IN FRAGMENTED SARCOPLASMIC RETICULUM AND MITOCHONDRIA AND ACTIVITY OF PROTEIN KINASE AND ADENYLATE CYCLASE SYSTEM OF HEART MUSCLE MICROSOMES ON THE 10 th DAY OF TOXI-ALLERGIC MYOCARDITIS

N. V. KARSANOV, Z. G. KHUGASHVILI, N. O. EDISHERASHVILI, R. V. UZUNJAN

The Republican Research Centre of Medical Biophysics of Georgian SSR,  
Public Health Ministry, Tbilisi

## S u m m a r y

In experiments on rabbits it was found that in toxi-allergic myocarditis (TAM)  $Ca^{2+}$  transport in fragmented sarcoplasmic reticulum (FSR) is reduced and  $Ca^{2+}$  release from FSR is significantly decreased. At the same time a decrease of membrane protein phosphorylation is observed, as well as a shift in adenylate cyclase system indicating an increase of its sensitivity to myoplasmic  $Ca^{2+}$ .  $Ca^{2+}$  absorption rate by mitochondria is increased.

A conclusion is made that it is not only the decrease of energy supply and injury of contractile protein system that underlie myocardium contractile function failure in TAM, but also the injury of the regulating system of myocardial cell contraction and relaxation.

РЕЦЕНЗИИ

**Б. Е. КУРАШВИЛИ.** Рецензия на монографию «Колорадский картофельный жук»  
(Под ред. Р. С. Ушатинской), «Наука», Москва, 1981

Недавно издательство «Наука» выпустило в свет монографию «Колорадский картофельный жук», составленную коллективом научных сотрудников институтов АН СССР, под редакцией и при непосредственном участии доктора биологических наук, профессора Р. С. Ушатинской. В монографии обобщены имеющиеся в мировой литературе научные данные, касающиеся всех аспектов существования колорадского жука, причем значительная их часть добыта в результате многолетних исследований авторов монографии и других советских ученых. В работе подробно освещается история формирования ареала жука, его современное состояние и возможные границы его расширения в будущем. Рассматривается систематическое положение колорадского жука в семействе жуков-листоедов, вопросы его филогении. Дается описание особенностей морфологии и анатомии жука, характеризующих его как определенный вид. Размножение и индивидуальное развитие рассматривается в эколого-физиологическом аспекте, а продолжительность развития генерации, плодовитость, сроки размножения — на фоне ряда абиотических факторов.

С точки зрения теории и практики представляют ценный материал данные по аутоэкологии колорадского жука, о влиянии на его жизнедеятельность температуры, влажности, света и, в связи с этим, об особенностях его фенологии в разных частях ареала.

В разделе о этологии жука рассматриваются вопросы питания, пищевой избирательности, влияние разных видов корма на жизнедеятельность жука, особенности суточной и сезонной ритмичности его жизни. В этой же главе дана характеристика стадий и условий зимовки жука, а также факторов, определяющих размеры смертности в зимний период.

Глава, специально посвященная физиологии и биохимии колорадского жука на разных стадиях онтогенеза, содержит характеристику водного баланса, обмена липидов, углеводов, белков, газообмена и тканевого дыхания, действия нейросекреторных и гормональных факторов.

Отдельная глава посвящена физиологической и биохимической характеристике состояния жуков в период активной жизнедеятельности и в период физиологического покоя. Обращают на себя внимание положения проф. Р. С. Ушатинской о диапаузе и ее взаимоотношении с другими выявленными ею модификациями физиологического покоя и о адаптивном значении многообразия этих модификаций для переживания видом неблагоприятных изменений абиотической среды, благодаря физиологической разнокачественности особей в популяции жука.

С практической точки зрения представляет интерес глава, в которой освещается вопрос о вредности колорадского жука и о факторах, обуславливающих ее размеры.

Наконец, последняя глава монографии посвящена изложению данных о естественных врагах колорадского жука — интродуцированных и местных энтомофагах из членистоногих и энтомопатогенных грибах, бактериях, протозоах, нематодах и их использовании для борьбы с колорадским жуком.

Монография содержит обширный список литературы на русском и иностранном языках.



Создание названной монографии следует приветствовать как вполне своевременное и важное во многих отношениях явление. Прежде всего в ней, как уже отмечалось, впервые в мировой литературе критически сопоставлены, подытожены и обобщены имеющиеся научные данные о колорадском жуке — одном из наиболее агрессивных вредителей картофеля и других пасленовых культур, насекомом, которое еще немногим более ста лет тому назад обитало лишь в горах Колорадо и питалось дикими растениями из семейства пасленовых, а затем, с развитием культуры картофеля, превратилось в опасного вредителя этого растения, быстро распространившись по всей Северной Америке, большей части Западной Европы и далее на восток — территория Украины, Белоруссии, прибалтийских республик, Молдавии, РСФСР. На территории Грузии колорадский жук в количестве единичных экземпляров был обнаружен в 1974 году в Ахалцихском и Гагрском районах, а в 1979—1980 гг. — в массовом количестве в пределах Марнеульского, Болнисского, Гардабанского, Цителцкарройского и Гудаутского районов.

Таким образом, возникла реальная задача борьбы с колорадским жуком. Именно в связи с этим монография об этом жуке, содержащая богатый материал, служащий основой успешного разрешения вопросов прогнозирования вредителя и борьбы с ним, имеет большое практическое значение.

Она станет основой развития исследований в области дальнейшего изучения этого жука и разработки эффективных мер борьбы с ним в соответствии с учетом природных условий отдельных регионов и в связи с задачами уточнения региональных систем мер защиты растений от колорадского жука.

Но значение монографии не ограничивается лишь знаниями о колорадском жуке, она затрагивает интересы дальнейшего развития исследований в области общих закономерностей популяционной экологии насекомых, их экологической физиологии и других аспектов энтомологии, так хорошо обобщенных и в значительной степени разработанных самими авторами монографии на примере колорадского жука — насекомого, обладающего высокой экологической пластичностью, многообразием адаптаций к переживанию неблагоприятных условий среды и поэтому являющегося вообще ценным объектом исследований.

На наш взгляд, книга заслуживает внимания энтомологов, зоологов, специалистов по защите растений, других работников сельского хозяйства, а также биологов широкого круга специальностей.

ბ. ყურაშვილი. რეცენზია მონოგრაფიაზე „კოლორადოს კარტოფილის ხოჭო“, „ნათეკა“, მოსკოვი, 1981 (რ. უშატინსკაიას რედაქციით).

B. E. Kurashvili. Review of the book „Colorado Potato Beetles“ (R. S. Ushatinskaya Ed), „Nauka“, Moscow, 1981.

К СВЕДЕНИЮ ЧИТАТЕЛЕЙ!

С 1 января 1982 года розничная цена на экземпляр журнала «Известия Академии наук Грузинской ССР, серия биологическая» устанавливается в размере 85 коп.

Подписная плата за год 5 р. 10 к.

Технический редактор Н. Г. Бенашвили  
Корректор Э. Е. Кобахидзе

Сдано в набор 11.09.1981; Подписано к печати 30.10.81; Формат бумаги  
70×108<sup>1</sup>/<sub>16</sub>; Бумага № 1; Высокая печать; Усл. печ. л. 8.40; Уч.-издат. л. 7.17;  
УЭ 09608; Тираж 1150; Заказ № 2910;

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 утвержденным редколлегией разделам биологии, обзорные статьи, написанные по заказу редколлегии, а также краткие сообщения и рецензии. Периодически в журнале будет помещаться краткая хроника о проведенных в республике научно-организационных мероприятиях.

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

12. Авторы получают бесплатно 12 отдельных оттисков.

6. 57/15

Цена 70 коп.

76 204