

784-1/
1382/2

27



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

1982 N 1

თბილისი - თბილისი
- ТБИЛИСИ -
ТБИЛИСИ - ТОМ
VOL.

8

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

საქართველოს სსრ მეცნიერებათა აკადემიის მაცნე
ИЗВЕСТИЯ АКАДЕМИИ НАУК ГРУЗИНСКОЙ ССР



ბიოლოგიის სერია СЕРИЯ БИОЛОГИЧЕСКАЯ

ტომი 8, № 1
Том 8, № 1

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

გამომცემლობა „მეცნიერება“ • თბილისი • 1982
ИЗДАТЕЛЬСТВО «МЕЦНИЕРЕБА» • ТБИЛИСИ • 1982



სარედაქციო კოლეგია:

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

ლ. გაბუნია, ს. დურმიშიძე, მ. ზაალიშვილი, გ. თუმანიშვილი,
გ. კანდელაკი, ნ. კეცხოველი, კ. ნადარეიშვილი, პ. კომეთიანი, ბ. ყურაშვილი,
ნ. მიძიშვილი, თ. ტანიშვილი, შ. ტანიშვილი, ნ. ჯავახიშვილი
პასუხისმგებელი მდივანი ს. ლაბაძე

РЕДАКЦИОННАЯ КОЛЛЕГИЯ:

Главный редактор В. М. Окуджава
Зам. главного редактора Т. Н. Онiani
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, 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. Bekiaia

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,
G. D. Tumanishvili, M. M. Zaalishvili
Executive Secretary S. R. Labadze

Известия АН ГССР
Серия биологическая, 1982

17282



Леонид Ильич Брежнев

Генеральный секретарь ЦК КПСС,
Председатель Президиума Верховного Совета СССР

К 75-летию со дня рождения

ՀԱՅԿԵՐԱՆ
ՅՈՒՆԵՍԿՈՅԻ
ԳԼԽԱՎՈՐ ԿՈՄԻՏԵ
ԵՐԵՎԱՆ



СОДЕРЖАНИЕ — შიგნაპირობა — CONTENTS

M. M. Khananashvili, M. M. Bogoslovskiy. Характеристика цикла сон-бодрствование у взрослых собак, выращенных в условиях внутривидовой изоляции	5
მ. ხანანაშვილი, მ. ბოგოსლოვსკი. ძილ-ღვიძილის ციკლის დახასიათება შინადასახეობრივ იზოლაციაში გაზრდილ ძაღლებში	
M. M. Khananashvili, M. M. Bogoslovsky. Characteristics of the sleep-wakefulness cycle in dogs reared in conditions of intraspecies isolation	
M. G. Tsagareli, A. S. Pivovarov. Изменение входного сопротивления коркового нейрона после внутриклеточной тетанизации	10
მ. ცაგარელი, ა. პივოვაროვი. დიდი ტვინის ნეირონის შესვლის წინააღმდეგ ცვლილება უჯრედშიდა ტეტანიზაციის შემდეგ	
M. G. Tsagareli, A. S. Pivovarov. Changes of input resistance of a cortical neurone after intracellular tetanization	
K. I. Tsintsadze, Yu. V. Shapatava. Влияние фармакологической денервации сердца на активность транспортных АТФаз в сарколемме мышцы сердца при инфаркте миокарда	15
კ. ცინცაძე, ი. შაფათავა. გულის ფარმაკოლოგიური დენერვაციის გავლენა გულის კუნთის სარკოლემაში ტრანსპორტული აზმზაზების აქტივობაზე, შიოკარდის ინფარქტის დროს	
K. I. Tsintsadze, Yu. V. Shapatava. Influence of pharmacological denervation of the heart on the activity of Na^+ , K^+ -ATPase and Ca^{2+} -ATPase in the sarcolemma of the heart muscle during myocardial infarction	
D. P. Museridze, Ts. S. Tsaishvili, I. K. Svanidze. Структурные изменения соматических мышц в тканевой культуре в условиях недостаточности CO_2 и O_2	22
დ. მუსერიძე, ც. ცაიშვილი, ი. სვანიძე. სომატური კუნთების სტრუქტურული ცვლილებები ქსოვილის კულტურაში CO_2 -ისა და O_2 -ის უმარობისას	
D. P. Museridze, Ts. S. Tsaishvili, I. K. Svanidze. Structural changes of the somatic muscle in cell tissue culture under conditions of CO_2 and O_2 deficiency	
N. G. Gordadze, L. G. Machaidze. Влияние нейролептанальгезии на кислотно-щелочное состояние крови и окислительно-восстановительные процессы в околиишемической зоне при кардиогенном шоке в эксперименте	26
ნ. გორდაძე, ლ. მაჩაიძე. ნეიროლეპტანალგეზიის გავლენა სისხლის მჟავა-ტუტოვან წონასწორობასა და იმემის ანო ზონაში ქანგვა-ლდვენით პროცესებზე, ექსპერიმენტული კარდიოგენული შოკის დროს	
N. G. Gordadze, L. G. Machaidze. Influence of neuroleptoanalgesia on blood acid-base balance and redox processes in preischemic zone under the experimental cardiogenic shock	
A. V. Khuchua. Роль гемокоагуляционных нарушений в патогенезе повреждения головного мозга в постреанимационном периоде	31
ა. ხუჭუა. პოსტრეანიმაციური პერიოდში ჰემოკოაგულაციური დარღვევათა მნიშვნელობა თავის ტვინის დაზიანების პათოგენეზში	
A. V. Khuchua. The role of hemocoagulation disturbances in the pathogenesis of brain damage in postresuscitation period	
M. Z. Japaridze, T. I. Jariashvili, L. G. Tsakadze, Z. P. Kometiani. Эффект нейротрансмиттеров на холинэргические и адренэргические синапсомы	38
მ. ჯაპარიძე, თ. ჯარიაშვილი, ლ. წაქაძე, ზ. ქომეთიანი. ნეიროტრანსმიტერების ეფექტი ადრენერგულ და ქოლინერგულ სინაპტოსომებზე	
M. Z. Japaridze, T. I. Jariashvili, L. G. Tsakadze, Z. P. Kometiani. Effect of neurotransmitters on adrenergic and cholinergic synaptosomes	



Н. В. Козаева, Д. Г. Микеладзе. О путях действия биогенных аминов на Mg^{2+} , Ca^{2+} -АТФазу синаптических мембран

5. კოზაევა, დ. მიქელაძე. სინაფსური მემბრანების Mg^{2+} , Ca^{2+} აბზავაზე ბიოგენური ამინების მოქმედების გზების შესახებ

N. V. Kozayeva, D. G. Mikeladze. Studies of the effects of the biogenic amines on the synaptic membrane Mg^{2+} , Ca^{2+} -ATPase

Г. Д. Цхоидзе, В. П. Цанавა, Н. Г. Цанавა, Н. Н. Нуцубидзе. Содержание свободных аминокислот листьев чая на фоне различных форм азота при вегетации

3. ცხოიძე, ვ. ცანავა, ნ. ცანავა, ნ. ნუცუბიძე. ჩაის ფოთლებში თავისუფალ ამინომჟავათა შემცველობა ვეგეტაციის დროს, აზოტის სხვადასხვა ფორმების ფონზე

G. D. Tskhoizde, V. P. Tsanava, N. G. Tsanava, N. N. Nutsubidze. Effect of different nitrogen forms on free amino acid content of tea leaves during vegetation

И. Ш. Мегрелишвили, Л. М. Шеварднадзе, В. В. Герасимов, М. М. Заалишвили. Микрокалориметрическое исследование реконструктивного комплекса гистон Н1—ДНК

6. მეგრელიშვილი, ლ. შევარდნაძე, ვ. გერასიმოვი, მ. ზაალიშვილი. დნმ-პისტონი Н1 რეკონსტრუირებული კომპლექსის მიკროკალორიმეტრული შესწავლა

J. Sh. Megrelishvili, L. M. Shevardnadze, V. V. Gerasimov, M. M. Zaalishvili. Microcalorimetric study of histone H1-DNA reconstructed complex

Н. Ш. Надирашвили, М. Ш. Симоидзе, М. М. Заалишвили, Ф. О. Шрайбман, Н. Н. Бокочадзе. О сульфгидрильных группах α -актина

6. ნადირაშვილი, მ. სიმონიძე, მ. ზაალიშვილი, ფ. შრაიბმანი, ნ. ბოკოჩაძე. α -აქტინინის სულფჰიდრილური ჯგუფების შესახებ

N. Sh. Nadirashvili, M. Sh. Simonidze, M. M. Zaalishvili, F. O. Shraibman, N. N. Bokochadze. On sullhydriyl groups of α -actinin

И. А. Андриашвили, Л. И. Квачадзе, А. М. Михайлов, Д. Г. Тушишвили, Т. Г. Чанишвили. Физико-химия и структурная организация вирионов новых ДНК-содержащих фагов

6. ანდრიაშვილი, ლ. კვაჩაძე, ა. მიხაილოვი, დ. თუშიშვილი, თ. ჭანიშვილი. დნმ-ის შემცველი ახალი ფაგების ვირიონთა ფიზიკა-ქიმიური და სტრუქტურული ორგანიზაცია

I. A. Andriashvili, L. I. Kvachadze, A. M. Mikhailov, D. G. Tushishvili, T. G. Chanishvili. Physico-chemistry and structural organization of virions of new DNA-containing phages

Рецензии

რეცენზიები
Reviews

И. М. Айвазашвили. Рецензия на монографию А. Н. Бакурадзе, Л. Н. Гугушвили, Т. Л. Нанейшвили, И. С. Бериташвили «Отсроченное поведение и рассудочная деятельность низших обезьян», Тбилиси, «Мецниереба», 1981, 99 с.

6. აივაზაშვილი. რეცენზია ა. ბაკურაძის, ლ. გუგუშვილის, თ. ნანეიშვილის, ი. ბერიტაშვილის კოლექტიურ მონოგრაფიაზე „უდაბლესი მაიმუნების დაყოვნებული ქცევა და გონიერი მოქმედება“, თბილისი, „მეცნიერება“, 1981, 99 გვ.

I. M. Aivashvili. Review of A. N. Bakuradze, L. N. Gugushvili, T. L. Naneishvili and I. S. Beritashvili book „Delayed behaviour and rational activity of primates“, Tbilisi, „Metsniereba“, 1981, 99 p.



УДК 612.826

ФИЗИОЛОГИЯ ЧЕЛОВЕКА И ЖИВОТНЫХ

**ХАРАКТЕРИСТИКА ЦИКЛА СОН-БОДРСТВОВАНИЕ
 У ВЗРОСЛЫХ СОБАК, ВЫРАЩЕННЫХ В УСЛОВИЯХ
 ВНУТРИВИДОВОЙ ИЗОЛЯЦИИ**

М. М. Хананашвили, М. М. Богословский

*Институт физиологии им. И. С. Бериташвили АН ГССР, Тбилиси
 НИИ экспериментальной медицины АМН СССР, Ленинград*

Поступила в редакцию 13.11.1981

Нарушение цикла сон-бодрствование относится к частым симптомам патологии высшей нервной деятельности, однако патогенез этого нарушения мало изучен, что создает определенные трудности в разработке путей его профилактики и лечения. Как показали ранее проведенные исследования, нормальное развитие высших функций мозга животных существенно определяется условиями их группового поведения на разных этапах онтогенетического развития. Так, установлено, что изоляция щенков от других особей в раннем постнатальном

онтогенезе нарушает нормальное развитие памяти [2, 1, 10], механизмов регуляции эмоций [7, 8], сексуальное поведение [11, 12, 8] и ряд других функций мозга [2]. Поскольку эти изменения часто сопровождаются нарушением и цикла сон-бодрствование при патологии высшей нервной деятельности различного происхождения, то представляло интерес изучить состояние этого цикла у животных, выращенных в условиях внутривидовой изоляции, что и составило задачу настоящего исследования.

МЕТОДИКА

Опыты ставились на 6 взрослых собак (возраст 1,5—2 года) обоего пола, выращенных в закрытых клетках вивария и изолированных от матери или братьев и сестер, начиная с 3-недельного возраста. Изоляция была частичной: щенки не могли общаться между собой или со взрослыми животными на основе зрительного и тактильного взаимодействия.

Цикл сон-бодрствование изучался на животных, выращенных в условиях следующих форм внутривидовой изоляции: три щенка росли без матери и других взрослых особей, но в сообществе с сестрой и братом того же помета; двое щенков росли с матерью, но без сверстников и один щенок — без сверстников и без взрослых особей. В качестве контроля служили 4 собаки, поступившие в виварий взрослыми и развивавшиеся в естественных условиях. В целях характеристики цикла сон-бодрствование всем

собакам были вживлены электроды в двигательную, теменную и зрительную области коры, дорсальный гиппокамп, наружное коленчатое тело, шейные мышцы и заднюю стенку глазниц. Индифферентный электрод — винт из нержавеющей стали — крепился в кости над лобной пазухой.

К опытам приступали спустя 10—14 дней после операции. Учитывая особенности высшей нервной деятельности этих собак [2, 8], период адаптации к камере, в которой производилась регистрация их сна, составлял 2—3 ночи. Камера, в которую помещали животных, представляла собой звукоизолированное экранированное помещение размером 3×2×2 м.

Во время опыта собаки не фиксировались и могли свободно располагаться в любом месте камеры. Кабель с регистрирующими проводами был подвешен так, что он не мешал животному двигаться или спать.

Сон каждого животного записывался 3—4 раза непрерывно в течение 9—10 ч: с 21 ч до времени его полного пробуждения. Регистрация показателей сна осуществлялась на 8-канальном электроэнцефалографе «Орион». При визуальной оценке энцефалограмм были выделены следующие

стадии сна: дремота, поверхностный сон, глубокий медленный сон, парадоксальный сон. Стадии сна определялись за каждые 30 с.

Полученные данные подвергались статистической обработке по критерию Стьюдента и непараметрическим методам анализа [3].

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

По сравнению с контрольной группой у собак-изолянтов обнаружена достоверно меньшая представленность медленного сна (поверхностный сон — $p < 0,01$; глубокий сон — $p < 0,001$) и существенное возрастание длительности парадоксального сна ($p < 0,001$).

Латентность наступления первого эпизода парадоксального сна у собак-изолянтов оказалась больше, чем у собак контрольной группы ($106 \pm 6,5$ и $88,4 \pm 5,3$ мин соответственно; $P = 95\%$). Латентности засыпания у обеих групп собак отличались недостоверно ($80,8 \pm 5,5$ и $78,9 \pm 6$ мин соответственно).

собак-изолянтов — к 2 ч. У сравниваемых групп животных динамика сна отличается также по поверхностной и дремотной стадиям. У собак-изолянтов обе эти стадии выражены хорошо, но имеют небольшой разброс своих значений на протяжении ночной записи, в то время как у интактных собак при четкой представленности они имеют свои максимумы: поверхностный сон — к 4 ч, а дремота — к 9 ч записи сна.

Парадоксальная стадия сна завершилась у собак-изолянтов в большей части случаев (70%) пробуждением, менее часто — переходом в дремотную

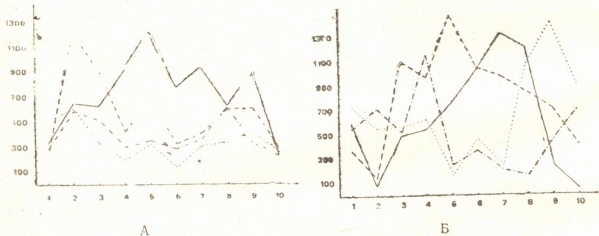


Рис. 1. Динамика стадий сна у собак, выращенных в условиях внутривидовой изоляции (А) и у собак контрольной группы (Б). График построен по усредненным показателям сна у 5 собак-изолянтов и у 3 собак контрольной группы. По оси абсцисс—часы сна; по оси ординат—длительность стадий в с. Пунктирная линия—дремота, штрих-пунктирная—легкий сон, штриховая—глубокий медленный сон, сплошная линия—парадоксальный сон

Сравнение графиков стадий сна у собак, выращенных в условиях внутривидовой изоляции, к у интактных собак контрольной группы выявило между ними ряд различий (рис. 1 А и Б). Так, если в норме парадоксальный сон имеет максимальную выраженность к 7 ч опыта, то у собак-изолянтов — уже к 5 ч. Глубокий медленный сон у интактных собак максимально представлен к 5 ч записи, а у

стадию (30%). У интактных собак наблюдалось обратное соотношение: 20 и 80% соответственно. Распределение и длительность периодов быстрых движений глаз во время парадоксального сна у собак-изолянтов не отличалась от такового интактных собак.

Подсчет числа последовательностей стадий сна-бодрствования показал, что у собак-изолянтов преобладает после-

довательность «дремота — поверхностный сон», а у собак контрольной группы — «бодрствование-дремота». У некоторых изолянтов встречались необычные сочетания стадий сна: например, после дремотной стадии мог возникнуть не легкий медленный сон, как обычно, а парадоксальный, а после периода бодрствования — не дремотная стадия, а сразу поверхностный сон. Однако во всех опытах сон каждый раз начинался с медленной фазы, а именно, с дремоты.

Собаки-изолянты отличались от собак контрольной группы и по коэффициенту последовательности стадий «К»: у изолянтов он составлял 1,9—2,1, а у животных контрольной группы — 1,2—1,4 ($P=95\%$).

Подсчет количества смен стадий показал, что у собак-изолянтов, по сравнению с контрольными собаками, преобладает число эпизодов бодрствования, поверхностного сна, глубокого сна и парадоксальной стадии. Это означает, что для них характерна повышенная фрагментарность сна: если среднее число стадий сна-бодрствования у собак-изолянтов составляло 197 ± 16 , то у собак контрольной группы — 159 ± 8 ($P=99\%$). Об этом же свидетельствует и разница в средней длительности стадий сна: наибольшую разницу по сравнению с интактными собаками имела длительность глубокого медленного сна (3,5 мин в опыте и 5,5 мин в контроле) и парадоксального сна (3,9 и 5,4 мин соответственно). Наибольшую длительность, как и у собак интактной группы, имели стадии парадоксального и глубокого сна.

Описанные изменения в характеристике цикла сон-бодрствование наблюдались у всех шести собак, выращенных в тех или иных условиях внутривидовой изоляции, но они были более выражены у собаки, лишенной контактов как со сверстниками, так и со взрослыми. Однако окончательный вывод о роли разной степени изоляции щенков на развитие функции сон-бодрствование требует дальнейших исследований.

Итак, сон собак, выращенных в условиях частичной изоляции от матери и сверстников, имеет систематические, длящиеся годами отклонения по ряду его параметров. Основными изменениями сна собак-изолянтов, по сравнению со сном собак контрольной

группы, являются: сокращение медленного (как поверхностного, так и глубокого) сна, значительное увеличение общей и средней длительности парадоксального сна, сокращение средней длительности глубокого сна и увеличение коэффициента последовательности стадий сна «К».

Причину нарушений сна у частично изолированных от других особей животных мы рассматриваем в рамках информационной концепции возникновения патологии высшей нервной деятельности [9], согласно которой патология формируется в результате длительного пребывания животного в условиях неблагоприятного и длительного сочетания трех следующих факторов: определенного объема информации, подлежащей приему и обработке (включая этап принятия решений), фактора времени и высокого уровня мотивации. Ранее [9] нами было установлено, что необходимость обработки большого объема информации в условиях дефицита времени и высокой мотивации вызывает у животных экспериментальный невроз. Результаты, изложенными в настоящей статье, показано, что пребывание животных и в условиях дефицита информации внутривидового происхождения (согласно ряду наблюдений — важнейшего фактора развития высшей нервной деятельности), при длительном воздействии на мозг дефицита этого фактора, и, как отмечалось, высокой значимости этой информации, также вызывает нарушения, в частности цикла сон-бодрствование. Поскольку ранее было установлено, что эти же условия вызывают нарушение памяти и других высших функций мозга [8, 9], то возникает вопрос о причинно-следственных отношениях между нарушениями сна и упомянутых функций. Как одно из возможных объяснений мы выдвигаем предположение о первичном происхождении патологии сна и вторичном характере нарушений высшей нервной деятельности, что находит подтверждение как в клинических [5], так и в экспериментальных [4] наблюдениях, согласно которым нарушение структуры сна может стать причиной возникновения изменений в высшей нервной деятельности человека и животных. Итак, длительное пребывание щенков в условиях частичной внутривидовой изо-

ლიაცი вызывает нарушение цикла сон-бодрствование, которое, в свою очередь, может стать патогенетическим

фактором нарушения памяти, аналитико-синтетических и других проявлений высшей нервной деятельности.

ЛИТЕРАТУРА

1. Б л и а д з е М. Г. I научн. конф. высших учебных заведений Закавказья по проблемам физиологии, Баку, 1979, 31—32.
2. Б у р а к о в а Н. С. Ж. высш. нервн. деят., 26, 6, 1195—1199, 1976.
3. Г у б л е р Е. В., Г е н к и н А. А. Применение непараметрических критериев статистики в медико-биологических исследованиях, «Медицина», Л., 1973.
4. К о р и д з е М. Г., Н е м с а д з е Н. Д. Журн. высш. нервн. деят., 30, 2, 304—309, 1980.
5. Л а т а ш Л. П. Итоги науки и техники. Сер. физиол. человека и животных, 15, Физиология эмоций, М., 1975, 94—152.
6. П о л т ы р е в а Т. Е. 25-е совещание по проблемам высш. нервн. деят., Л., 2, 1977, 122—123.

7. П о ш и в а л о в В. П. В сб.: Модели и методы изучения экспериментальных эмоциональных стрессов (Мат. Всес. симп.), Волгоград, 1977, 255—257.
8. Х а н а н а ш в и л и М. М. Механизмы нормальной и патологической условно-рефлекторной деятельности, «Медицина», Л., 1972.
9. Х а н а н а ш в и л и М. М. Информационные неврозы, «Медицина», Л., 1978, 141.
10. Х а н а н а ш в и л и М. М., О р д ж о н и к и д з е Ц. А. В кн.: Гагрские беседы, Тбилиси, «Мецნიერება», 1979, 413—425.
11. В e a c h F. A. Behavior, 30, 218—238, 1968.
12. H a r l o w H. F., H a r l o w M. K. Effects of various infant relationships on rhesus monkeys behaviour, London, 1965, 283—295.

ძილ-ღვიძილის ციკლის დახასიათება უმდასახეობრივ იზოლაციაში გაზრდილ ძაღლებში

გ. ხანანაშვილი, გ. ბოგოშლოვსკი

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

სსრკ მედიცინის მეცნიერებათა აკადემიის ექსპერიმენტული მედიცინის ინსტიტუტი, ლენინგრადი

რ ე ზ ი უ მ ე

ცდები ჩატარებულია ორივე სქესის 6 მთავრადილ ძაღლზე, რომლებიც გაიზარდნენ ნაწილობრივი უმდასახეობრივი იზოლაციის პირობებში. გამოირკვა, რომ ამ ძაღლებში, ნორმალურ უმდასახეობრივ ურთიერთობაში გაზრდილ ძაღლებთან (საკონტროლო ჯგუფთან) შედარებით, შემცირებულია როგორც ზედაპირული, ისე ღრმა წელი ძილი და გაზრდილია პარადოქსული ძილის ხანგრძლივობა (განსხვავება სარწმუნოა). იზოლაციაში გაზრდილ ძაღლებში ჭარბობს თანმიმდევრობა „თვლემა — ზედაპირული ძილი“, ხოლო საკონტროლოში — „სიფხიზლე-თვლემა“. უმდასახეობრივ იზოლაციაში გაზრდილი ძაღლებისთვის დამახასიათებელია ძილის

ფრაგმენტულობის გაზრდა — მათ, საკონტროლო ჯგუფთან შედარებით, მომატებული აქვთ ძილ-ღვიძილის სტადიების რაოდენობა. დეავსკეენით, რომ აღნიშნულ ცვლილებათა ერთ-ერთი მთავარი მიზეზი უნდა იყოს იზოლაციათა გამოწვეული ქრონიკული ემოციური დაძაბულობა. გამოთქმულია მოსაზრება, რომ ძილ-ღვიძილის ციკლის დარღვევა თავის მხრივ ხელს უწყობს მეხსიერების, ანალოზისა და სინთეზის ფუნქციისა და უმადლესი ნერვული მოქმედების სხვა გამოვლინებების პათოლოგიას. ამრიგად, ძილ-ღვიძილის ციკლის დარღვევა წარმოადგენს უმადლესი ნერვული მოქმედების პათოლოგიის ერთ-ერთ არსებით ფაქტორს.

CHARACTERISTICS OF THE SLEEP-WAKEFULNESS CYCLE IN DOGS REARED IN CONDITIONS OF INTRASPECIES ISOLATION

M. M. KHANANASHVILI, M. M. BOGOSLOVSKY

I. S. Beritashvili Institute of Physiology, Georgian Academy of Sciences, Tbilisi, USSR
Pavlov Physiology Department of Institute for Experimental Medicine,
USSR Academy of Medical Sciences, Leningrad

S u m m a r y

The experiments were performed in 6 adult dogs of both sexes in conditions of partial intraspecies isolation. It was shown that in comparison with control intact dogs they show significantly less amount of slow wave sleep — both light and deep — and augmentation of paradoxical sleep. For the isolated reared dogs the enhanced fragmentariness of sleep was common — increasing number of the sleep-wakefulness

cycle episodes. The conclusion was made that one of the main reasons for sleep disturbances is the chronic emotional stress — the consequence of the animals isolation.

Destruction of the sleep-wakefulness cycle is supposed to produce the disturbances of memory and other functions of the higher nervous activity in isolated animals.



УДК 612.822.3

ФИЗИОЛОГИЯ ЧЕЛОВЕКА И ЖИВОТНЫХ

ИЗМЕНЕНИЕ ВХОДНОГО СОПРОТИВЛЕНИЯ КОРКОВОГО НЕЙРОНА ПОСЛЕ ВНУТРИКЛЕТочНОЙ ТЕТАНИЗАЦИИ

М. Г. Цагарели, А. С. Пивоваров

Московский государственный университет им. М. В. Ломоносова

Поступила в редакцию 27.07.1981

Исследовано изменение входного сопротивления нейронов зрительной коры переднего мозга черепахи после внутриклеточной тетанизации. В период посттетанического облегчения в одной группе клеток входное сопротивление увеличивается, а в другой уменьшается. Облегчение также сопровождается увеличением амплитуды вызванных и спонтанных спайков. Во время посттетанической депрессии в одной группе клеток входное сопротивление также увеличивается, а в другой уменьшается. Депрессия сопровождается уменьшением амплитуды вызванных и спонтанных спайков. Изменение входного сопротивления нейрона может быть причиной посттетанической пластичности спайковой активности нервных клеток. Сделан вывод об активной роли постсинаптического нейрона в посттетанической пластичности нервной клетки.

Цель настоящей работы — дальнейшее изучение изменений в постсинаптической мембране нейрона во время посттетанической пластичности [3], в

частности, исследование изменения входного сопротивления (ВС) нейрона после внутриклеточной тетанизации.

МЕТОДИКА

Эксперименты проводили на нейронах зрительной коры переднего мозга болотной черепахи. Детальное описание методики приводится в предыдущей работе [3].

Изменение ВС оценивали по величине и знаку потенциала разбаланса мостовой схемы для поляризации клеток при пропускании тестирующего, деполяризующего прямоугольного толчка тока сверхпороговой силы длительностью 100 мс. Изменение потенциала

разбаланса мостовой схемы в положительном направлении свидетельствует об увеличении ВС, а изменение его в отрицательном направлении — об уменьшении ВС. Изменение потенциала разбаланса мостовой схемы для определения входного сопротивления нейронов широко распространено в современной электрофизиологии и используется многими авторами для решения разнообразных задач [1, 4, 5, 6].

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Результаты получены на 97 нейронах, мембранный потенциал (МП) которых составлял 40—60 мВ, амплитуда потенциала действия (ПД) превышала 40 мВ и достигала у некоторых клеток 60 мВ. Время непрерывной регистрации превышало 5 мин; у 31 клет-

ки оно составляло около 1 ч. Нами обнаружено, что посттетаническая пластичность корковых нейронов черепахи сопровождается закономерным и обратимым изменением их ВС после внутриклеточной тетанизации исследуемой клетки.

По направлению изменения ВС все исследованные нейроны, как во время посттетанического облегчения, так и посттетанической депрессии, были разделены на две группы. В нейронах

их группах нейронов. Из 79 нейронов во время облегчения сопротивление возрастает у 17, а уменьшается у 25 клеток. При депрессии сопротивление возрастает у 13 нейронов, уменьшается у 24.

Во время посттетанического облегчения отмечается увеличение амплитуд вызванных и спонтанных ПД на 6—10% (рис. 3А, Б). При посттетанической депрессии амплитуда вызванных и спонтанных ПД уменьшается на 5—8%.

В предыдущей работе [3] нами показано увеличение вызванной спайковой активности при посттетаническом облегчении (уменьшение латентности и увеличение частоты ПД) и уменьшение спайковой активности при посттетанической депрессии (увеличение латентности и уменьшение частоты ПД), т. е. возбудимость спайкгенерирующей мембраны растет во время облегчения и уменьшается при депрессии. Сравнение с этими результатами показывает, что изменение амплитуд вызванных и спонтанных ПД протекает параллельно с изменением возбудимости спайкгенерирующей мембраны.

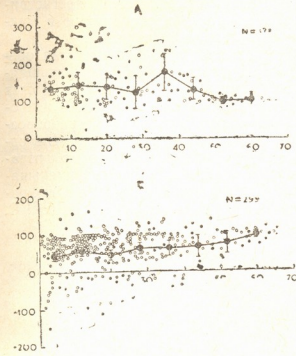


Рис. 1. Изменение входного сопротивления нейронов во время посттетанического облегчения: А—изменение амплитуды потенциала разбаланса мостовой схемы в положительном направлении при пропускании деполяризующего толчка тока, Б—в отрицательном направлении; по оси абсцисс — время после окончания внутриклеточной тетанизации, с; по оси ординат — величина потенциала разбаланса в % относительно контрольных значений до тетанизации. На графиках представлены все экспериментальные величины (светлые кружки) и их выборочные средние (черные кружки) с доверительными интервалами ($P < 0.01$). N—объем выборки

первой группы при облегчении ВС растет — сдвиг потенциала разбаланса в положительном направлении (рис. 1А; рис. 4Б), и затем постепенно возвращается к исходному уровню на 50—60-й с. В нейронах второй группы при этой же форме пластичности ВС уменьшается — сдвиг потенциала разбаланса в отрицательном направлении (рис. 1Б; рис. 4В), и возвращается к исходному уровню на 60-й с. Во время депрессии ВС увеличивается у клеток первой группы (рис. 2А; рис. 4Г) и уменьшается в клетках второй группы (рис. 2Б; рис. 4Д). Восстановление ВС в обеих группах заканчивается к 55—60-й с. Кинетика изменения ВС имеет почти сходный характер в обе-

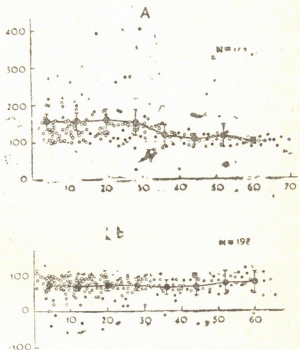


Рис. 2. Изменение входного сопротивления нейронов во время посттетанической депрессии. Все обозначения как на рис. 1

Одной из причин увеличения амплитуд вызванных и спонтанных ПД во время посттетанического облегчения может быть изменение пассивных свойств клеточной мембраны, в част-

ности, обнаруженное в этот период увеличение ВС нейрона. Уменьшение амплитуд спайков во время посттетанической депрессии вызвано уменьшением ВС нейрона.

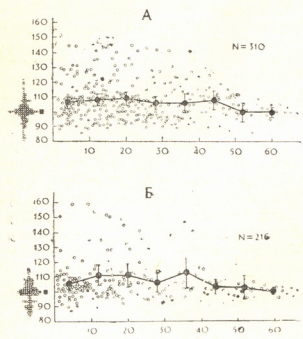


Рис. 3. Увеличения амплитуд потенциалов действия во время посттетанического облегчения: А — амплитуда вызванного спайка; Б — амплитуда спонтанного спайка. Слевой стороны каждого графика показаны контрольные значения соответствующих параметров до тетанизации. Остальные обозначения как на рис. 1

Обнаруженное уменьшение ВС при облегчении и увеличение при депрессии, вероятно, не влияет на спайковую активность.

Надо отметить, что только в 6 клетках из 97 (6,1%) меняется направление изменения ВС на противоположное — в повторных сериях при смене формы пластичности. В остальных случаях направление изменения ВС у одного и того же нейрона было постоянным в повторных сериях при сохранении посттетанического сдвига пластичности. В двух нейронах из этих 6 сохраняется направление изменения ВС в повторной серии после смены формы пластичности.

С целью исключить возможность артефакта вследствие поляризации микроэлектрода при пропуске деполяризующих толчков тока мы провели контрольные серии с имитацией опытных. Микроэлектрод находился не в нейроне, а во внеклеточной среде. В этом случае амплитуда потенциала

разбаланса и его знак не изменяются после внеклеточной тетанизации (рис. 4А). Значит при использованных нами токах и микроэлектродах последние не поляризуются. Следовательно, изменения сопротивления, зарегистрированные нами, происходят не в микроэлектродах, а в нейронах.

Незначительная деполяризация обеих форм пластичности, наблюдавшаяся в начальный период, не может быть причиной изменения ВС нейрона. Изменение этого параметра описано в предыдущей работе [3]. ВС в одной группе нейронов обратимо возрастает, а в другой обратно уменьшается. Если бы МП в наших опытах определял обнаруженные изменения ВС,

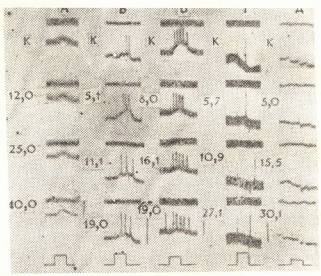


Рис. 4. Осциллограммы внутриклеточных реакций нейронов и потенциалов разбаланса мостовой схемы, вызванных толчками деполяризующего тока, во время посттетанической пластичности: А — амплитуда потенциала разбаланса мостовой схемы в контрольной серии; Б — увеличение потенциала разбаланса мостовой схемы и В — уменьшение его во время облегчения; Г — увеличение потенциала разбаланса и Д — уменьшение его во время депрессии; цифры слева от осциллограмм — время (в с), прошедшее после окончания тетанизации и до момента подачи тестового толчка тока; К — ответы до тетанизации. Верхние кривые пропорциональны нулевому уровню МП, нижние — внутриклеточное отведение. Под осциллограммами — отметка пропуска тока. Калибровка: напряжения — 50 мВ, силы тока — 1 нА, времени — 100 мс

то они должны были быть только одного направления, что на самом деле не наблюдается.



Разнонаправленные изменения ВС двух групп нейронов мы обнаружили ранее после ортодромной тетанизации зрительного центра [2].

Барани и Фехер [4] также наблюдали изменения сопротивления мембраны в нейронах коры кошки после антидромного кондиционирования пирамидного тракта. Они обнаружили увеличение сопротивления на $3,6 M\Omega \pm 1,1 M\Omega$ в 24 клетках, а в 9 — уменьшение сопротивления на $1,6 M\Omega \pm 3,0 M\Omega$. Авторы заключили, что обнаруженные ими изменения сопротивления мембраны и частоты спайковой активности нейронов ука-

зывают на постсинаптическую локализацию кондиционированных пластических сдвигов.

Обнаруженные нами изменения ВС коркового нейрона, которые отражают структурные и функциональные перестройки постсинаптического нейрона, возникают не только при синаптической тетанизации, но и при внутриклеточной, когда воздействие на пресинаптические структуры исключено. Данные изменения ВС указывают на существование механизмов посттанической пластичности на постсинаптическом уровне.

ЛИТЕРАТУРА

1. Кэндел Э. Р. Клеточные основы поведения, «Мир», М., 1980.
 2. Пивоваров А. С., Цагарели М. Г. ДАН СССР, 259, 23—29, 1981.
 3. Пивоваров А. С., Цагарели М. Г. Изв. АН ГССР, сер. биол., 7, 6, 493—501, 1981.
 4. Baranyi A., Fehér O. Exper. Brain Res., 41, 124—134, 1981.
 5. Rattan K. S., Peretz B. Fed. Proc., 36, 460, 1977.
 6. Weight F. F., Schulman J. A., Smith P. A., Busis N. A. Fed. Proc., 38, 2084—2094, 1979.

დიდი ტვინის ჰერქის ნეირონის შესავლის წინაღობის ცვლილება უჯრედშიდა ტეტანიზაციის შემდეგ

- ა. ცაბარელი, ა. პივოვაროვი
 ბ. ლომონოსოვის სახელობის მოსკოვის სახელმწიფო უნივერსიტეტი

რ ე ზ ი უ მ ე

უჯრედში მცირე სიმძლავრის დენის რიტმული იმპულსებით გატარება კუს მხედველობის ქერქის ნეირონებში იწვევს უჯრედის შესავლის წინაღობის შექცევად ცვლილებას. პოსტტეტანური გადავილების დროს შესავლის წინაღობა ნეირონების ერთ ჯგუფში იზრდება, ხოლო მეორე ჯგუფში მცირდება. გადავილებას თან ახლავს გამოწვეული და სპონტანური მოქმედების პოტენციალის ამპლიტუდის ზრდა. პოსტტეტანური დეპრესიის დროს შესავლის წინაღობა ნეირონ-

ბის ერთ ჯგუფში იზრდება, ხოლო მეორეში მცირდება. დეპრესიის ფაზაში გამოწვეული და სპონტანური მოქმედების პოტენციალების ამპლიტუდა შემცირებულია. ნერვული უჯრედის პოსტტეტანური სპაიკ-აქტივობის პლასტიკურობის მიზეზი ალბათ უნდა იყოს ნეირონის შესავლის წინაღმდეგობის შეცვლა, რასაც საფუძვლად უდევს პოსტსინაფსური მემბრანის სტრუქტურული და ფუნქციური გარდაქმნები.



CHANGES OF INPUT RESISTANCE OF A CORTICAL NEURONE AFTER INTRACELLULAR TETANIZATION

M. G. TSAGARELI, A. S. PIVOVAROV

Lomonosov State University, Moscow, USSR

Summary

Changes of input resistance of visual cortex neurones in forebrain of turtle are investigated during intracellular posttetanic plasticity. In the period of posttetanic facilitation input resistance is increased in one neuronal group, and decreased in the other group of neurones. Facilitation is accompanied by the augmentation of the amplitude of evoked and spontaneous spikes. In the period of posttetanic depression input resistance is also increased in one group of neurones, and decreased in the other group. Depression is accompanied by a reduction of the amplitude of evoked and spontaneous spikes. Changes of input resistance of some of neurones underlie the plasticity of spikes responses. Active role of postsynaptic neuron is suggested in posttetanic plasticity of a nerve cell.

УДК 612.172

ФИЗИОЛОГИЯ ЧЕЛОВЕКА И ЖИВОТНЫХ

ВЛИЯНИЕ ФАРМАКОЛОГИЧЕСКОЙ ДЕНЕРВАЦИИ СЕРДЦА НА АКТИВНОСТЬ ТРАНСПОРТНЫХ АТФаз В САРКОЛЕММЕ МЫШЦЫ СЕРДЦА ПРИ ИНФАРКТЕ МИОКАРДА

К. И. Цинцадзе, Ю. В. Шапатава

Институт экспериментальной и клинической терапии МЗ ГССР, Тбилиси

Поступила в редакцию 25.06.1981

Изучалось влияние фармакологической денервации сердца на активность транспортных АТФаз во фракции сарколеммы мышцы сердца у собак в норме и в различные периоды развития инфаркта миокарда. Электрическая нестабильность сердца при острой ишемии и в различные периоды развития инфаркта миокарда обусловлена подавлением с разной интенсивностью активности Na^+ , K^+ -АТФазы и Ca^{2+} -АТФазы в зоне ишемии, околорубцовой ткани и в рубце при сохранении их активностей в интактных участках миокарда. Фармакологическая денервация сердца внутривенным введением обзидана (1 мг/кг) и атропина (1 мг/кг) равномерно подавляет активность транспортных АТФаз во всех участках сердца, кроме зоны рубца, состоящего из невозбудимой соединительной ткани, и снимает явления электрической нестабильности его, благодаря упорядочению ритма сердца, снятию симпатических и парасимпатических воздействий на него и улучшению микроциркуляции.

В основе молекулярного механизма патогенеза аритмии, фибрилляции желудочков и понижения сократимости миокарда при его инфаркте лежит электрическая нестабильность, благодаря различной интенсивности активного транспорта Na^+ , K^+ и Ca^{2+} , регулируемых Na^+ , K^+ -АТФазой [21] и Ca^{2+} -АТФазой [22] в зоне ишемии, паранекротической зоне, в рубцовой ткани и интактном миокарде [8, 9, 20]. Подавление 4-й фазы реполяризации при ишемии миокарда связано с подавлением внутриклеточного калия в миокарде [15], причем трансмиттеры вегетативной нервной системы, модулирующие уровень экстрацеллюлярного калия, влияют на ритм сердца [11, 18].

Важное место в патогенезе аритмии при инфаркте миокарда принадлежит расстройству взаимодействия симпатических и парасимпатических влияний на сердце. При ишемии миокарда у собак симпатическая нервная система активируется [5], оказывая прямое действие, повышая ранимость же-

лудочков к фибрилляции [23], а блуждающий нерв оказывает непря- мое влияние, благодаря мускариновой активации [17, 24], что ингибирует выделение норадреналина симпатическими нервными окончаниями и влияет на реакции катехоламинов на уровне рецепторов [11, 23].

Это позволяет выдвинуть новый принцип экспериментальной терапии инфаркта миокарда — фармакологическую денервацию, предоставив сердцу возможность работать в собственном ритме.

Прежде всего мы остановились на применении бета-адреноблокатора — обзидана, который снимает явления тахикардии (ограничивает зону ишемии) и электрической нестабильности сердца, действуя на ионный обмен, мембранные потенциалы [4, 16], активность Na^+ , K^+ -АТФазы в сарколемме мышцы сердца [9] и стабилизируя мембраны [10]. Раздражение блуждающего нерва неблагоприятно влияет на течение инфаркта миокарда [2, 12], а ваготомия или применение



атропина улучшают кровоснабжение миокарда и через синокаротидный рефлекс устраняют эктопический очаг возбуждения [7].

Целью работы было изучение влияния обзидана и атропина на активность транспортных АТФаз, ибо в ли-

тературе известны лишь единичные работы об их профилактическом действии на фибрилляцию желудочков [6] и снижение положительного эффекта дигоксина, благодаря угнетению Na^+ , K^+ -АТФазы [14].

МЕТОДИКА

Опыты проведены на 33 беспородных собаках весом 20—25 кг. В контрольной серии опытов под внутривенным этиминал-натриевым наркозом (0,025—0,030 г/кг) и послышной новокаиновой анестезией при искусственном дыхании вскрывались грудная клетка и перикард, регистрировались давление в центральном конце общей сонной артерии и синокаротидный рефлекс.

В 1-й серии опытов изучалось влияние внутривенного введения 0,1%-ного атропина (1 мг/кг) и обзидана (1 мг/кг) на активность транспортных АТФаз в сарколемме миокарда интактных собак.

Во 2-й серии перевязывалась передняя межжелудочковая ветвь в средней трети левой венечной артерии и вены. Через час после этого брались участки миокарда в зоне ишемии и в интактном правом желудочке до и под влиянием введения атропина и обзидана.

В 3-й серии под морфинно-эфирным наркозом производилась торакотомия

и накладывалась лигатура на левую венечную артерию в ее средней трети. Забивка собак производилась через 3—7 и 21 день после перевязки венечных сосудов под этиминал-натриевым наркозом, как и в контрольной серии, — в одних случаях без введения лекарств, в других — после внутривенного введения атропина и обзидана. Извлекалось сердце, и после перевязки венечной артерии и вены брались участки интактных правого и левого желудочков и зоны ишемии целиком, иногда эта зона дифференцировалась и брались участки миокарда в области рубца и околорубцовой ткани раздельно. Дифференциальным центрифугированием выделялась фракция сарколеммы и в ней определялись активности Na^+ , K^+ -АТФазы, Ca^{2+} -АТФазы и Mg^{2+} -АТФазы. АТФазную активность измеряли по нарастанию в среде инкубации неорганического фосфора, который определяли по Фиске и Суббароу [13]. За Na^+ , K^+ -АТФазу принимали разность величин между суммарной и Mg^{2+} -АТФазой.

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

В контрольной серии опытов (табл. 1) активность Na^+ , K^+ -АТФазы и Ca^{2+} -АТФазы в сарколемме правого и левого желудочков одинаковая, что указывает на однородную интенсивность активного транспорта ионов во всем сердце и является молекулярной основой электрической стабильности сердца. Благодаря асимметричности электрогенного натрий-калиевого насоса на активность K^+ -АТФазы приходится 3/5, а Na^+ -АТФазы 2/5 активности Na^+ , K^+ -АТФазы, что позволяет рассчитать условно активность Na^+ -АТФазы [3], а также коэффициент сопряжения между Na^+ , K^+ -АТФазой и Ca^{2+} -АТФазой (KС_1) и Na^+ -АТФазой и Ca^{2+} -АТФазой (KС_2). Оказалось, что KС_1 равен 2, а KС_2 — 0,8. Эти коэффициенты также оказа-

лись одинаковыми в левом и правом желудочках.

Внутривенное введение атропина равномерно подавляет активность Na^+ , K^+ -АТФазы и Ca^{2+} -АТФазы, не влияя на коэффициенты их сопряжения. Введение обзидана и атропина в вену еще больше, но также равномерно подавляет активности Na^+ , K^+ -АТФазы и Ca^{2+} -АТФазы, не влияя на KС .

При острой ишемии миокарда через час после перевязки венечной артерии и вены активность Na^+ , K^+ -АТФазы оказывается подавленной лишь в зоне ишемии левого желудочка и сохраняется в интактном правом желудочке, а активность Ca^{2+} -АТФазы — во всем сердце, причем опять-таки больше в зоне ишемии левого



желудочка. Коэффициенты сопряжения АТФаз сохраняются в интактном правом желудочке и резко меняются в зоне ишемии: резко нарастает KC_1 , отношение Na^+ , K^+ -АТФазы к Ca^{2+} -АТФазе (благодаря более резкому подавлению Ca^{2+} -АТФазы по сравнению с Na^+ , K^+ -АТФазой) и KC_2 , отношение Na^+ -АТФазы к Ca^{2+} -АТФазе (также благодаря ее более резкому подавлению, что расстраивает натрий-кальциевый и натрий-кальциевый насосы); выход Ca^{2+} из мембраны в период реполяризации задерживается, уменьшается также поступление Ca^{2+} в миокард. Миокард становится элек-

трически нестабильным, на ЭКГ являются признаки ишемии миокарда и расстройства реполяризации. Артериальное давление через 5 мин после перевязки венечных сосудов падает до 73 ± 7 , а через 30 мин до 90 ± 4 мм рт. ст. ($P < 0,001$). Ритм сердца в исходном состоянии равен 112 ± 5 , а после этиаминал-натриевого наркоза растет до 210 ± 6 уд/мин; торакалотомия не влияет на тахикардию, вызванную наркозом (201 ± 6 уд/мин). Через 5 мин после перевязки ритм замедляется до 179 ± 7 , а через 30 мин — до 154 ± 11 уд/мин ($P < 0,05$).

17282

Таблица 1

Влияние внутривенного введения обзидана (1 мг/кг) и атропина (1 мг/кг) на активности Na^+ , K^+ -АТФазы и Ca^{2+} -АТФазы (мкг P_n мг белка/60 мин) в сарколемме миокарда собак в норме и при острой ишемии миокарда ($M \pm m$)

Отделы сердца	Na^+ , K^+ -АТФаза		п	$P_1 < P_2 <$	Ca^{2+} -АТФаза		п	$P_1 < P_2 <$	$KC_1 - KC_2$
	$M \pm m$	$M \pm m$			$M \pm m$	$M \pm m$			
Н о р м а									
Правый желудочек	$9,67 \pm 1,32$	5			$3,97 \pm 0,29$	4			2,4—0,79
Левый желудочек	$9,10 \pm 0,93$	5	0,8		$4,41 \pm 0,47$	4	0,5		2,2—0,82
А т р о п и н в в е н у									
Правый желудочек	$5,66 \pm 1,09$	6		0,05	$2,80 \pm 0,37$	6		0,05	2,02—0,80
Левый желудочек	$6,18 \pm 1,20$	6	0,8	0,10	$2,80 \pm 0,33$	6	1	0,05	2,20—0,88
О б з и д а н и а т р о п и н в в е н у									
Правый желудочек $P_3 <$	$2,60 \pm 0,58$ 0,05	3		0,01	$1,22 \pm 0,05$ 0,01	3		0,01	2,13—0,85
Левый желудочек $P_3 <$	$2,60 \pm 0,72$ 0,05	3	1	0,01	$1,19 \pm 0,08$ 0,01	3	0,8	0,001	2,2—0,87
П о с л е п е р е в я з к и л е в о й в е н ч е н о й а р т е р и и в е н ы в с р е д н е й т р е т и ч е р е з ч а с									
Правый желудочек	$5,75 \pm 1,27$	4		0,10	$2,47 \pm 0,32$	3		0,02	2,33—0,93
Левый желудочек, зона ишемии	$4,56 \pm 0,56$	4	0,5	0,01	$1,17 \pm 0,16$	3	0,02	0,02	3,9—1,50
О б з и д а н и а т р о п и н в в е н у									
Правый желудочек $P_4 <$	$3,20 \pm 0,8$ 0,5	4		0,01	$2,10 \pm 0,26$ 0,02	4		0,01	1,5—0,6
Левый желудочек, зона ишемии $P_4 <$	$3,23 \pm 0,6$ 0,5	4	1	0,01	$2,08 \pm 0,28$ 0,05	4	1	0,01	1,55—0,6

Примечание. Достоверность различий: P_1 —между правым и левым желудочками; P_2 —соответственно с нормой; P_3 —между данными от введения атропина и обзидана и обзидана; P_4 —между данными введения атропина и обзидана здоровым животным и животным с экспериментальной ишемией миокарда; KC_1 —коэффициент сопряжения между активностями Na^+ , K^+ -АТФазы и Ca^{2+} -АТФазы, KC_2 — Na^+ -АТФазы и Ca^{2+} -АТФазы; п—число случаев

17
 შ. შიშინიძის სახ. სსიპ.
 სსიპ საბავშვო სასწავლებელი
 ბიბლიოთეკა



Внутривенное введение обзидана и атропина снимает явления электрической нестабильности миокарда, а в левом и правом желудочках выравнивает активность транспортных АТФаз, которые однако протекают на более низком уровне, по сравнению с нормой; коэффициенты сопряжения АТФаз равномерно снижаются (табл. 1), что отражает работу сердца в «обстоятельном» ритме без экстракардиальных влияний.

В острой стадии инфаркта миокарда через 3 дня после перевязки левой ве-

нечной артерии и вены на фоне компенсаторной тахикардии (148 ± 6 уд/мин, $P < 0,001$), гипертензии (156 ± 18 мм рт. ст., $P < 0,05$), лейкоцитоза (11092 ± 648 в 1 мм^3 , $P < 0,001$), повышения РОЭ ($17 + 5 \text{ мм в ч}$, $P < 0,001$) явления электрической нестабильности миокарда выражены еще больше (появление экстрасистолии, элевация ST сегмента в I и грудных отведениях, переход R на T, депрессия ST сегмента во II и III отведениях). Активность Na^+ , K^+ -АТФазы сохраняется в интактном правом желудочке, подав-

Таблица 2
Влияние внутривенного введения обзидана (1 мг/кг) и атропина (1 мг/кг) на активности Na^+ , K^+ -АТФазы и Ca^{2+} -АТФазы ($\text{мкг Р}_{11}/\text{мг белка}/60 \text{ мин}$) в сарколемме миокарда собак в различные периоды развития инфаркта миокарда ($\text{M} \pm \text{m}$)

Отделы сердца	Na^+ , K^+ -АТФаза	n	$P_1 < P_2 <$	Ca^{2+} -АТФаза	n	$P_1 < P_2 <$	$\text{KC}_1 - \text{KC}_2$
После перевязки левой венечной артерии и вены в средней трети Через 3 дня							
Правый желудочек	$6,58 \pm 0,77$	4	1	$1,98 \pm 0,68$	4	0,05	3,32—1,3
Левый желудочек, интактный	$5,26 \pm 0,75$	3	0,3	$1,74 \pm 0,29$	4	0,8	0,01
рубец	$1,27 \pm 0,25$	4	0,001				3,0—1,2
околорубцовая ткань	$4,85 \pm 0,75$	4	0,01	$1,98 \pm 0,16$	4	0,01	2,4—0,97
Обзидан и атропин в вену							
Правый желудочек $P_4 <$	$5,42 \pm 0,89$ 0,05	4	0,05 0,2	$2,02 \pm 0,41$	4	0,01	2,7—1,1
Левый желудочек, интактный $P_4 <$	$4,64 \pm 0,80$ 0,05	4	0,6 0,1	$2,27 \pm 0,43$	4	0,8	0,02
рубец	$1,32 \pm 0,32$	3	0,001	$0,79 \pm 0,04$	3	0,001	1,7—0,7
околорубцовая ткань	$3,21 \pm 0,34$	4	0,001	$1,24 \pm 0,09$	4	0,001	2,6—1,0
Через 7 дней							
Правый желудочек	$8,08 \pm 0,89$	6	0,6	$2,87 \pm 0,45$	6	0,001	2,8—1,1
Левый желудочек, интактный	$7,13 \pm 0,35$	3	0,2	$3,38 \pm 0,72$	6	0,6	0,6
рубец	$2,45 \pm 0,37$	5	0,001	$1,35 \pm 0,18$	5	0,001	2,1—0,8
околорубцовая ткань	$4,11 \pm 0,48$	9	0,001	$2,49 \pm 0,29$	8	0,1	1,8—0,7 1,6—0,6
Обзидан и атропин в вену							
Правый желудочек $P_4 <$	$7,83 \pm 0,56$ 0,01	4	0,3	$2,78 \pm 0,45$ 0,2	4	0,2	2,8—1,1
Левый желудочек, интактный $P_4 <$	$6,55 \pm 0,51$ 0,01	4	0,2 0,05	$2,29 \pm 0,77$ 0,3	4	0,8	0,1
околорубцовая ткань	$4,30 \pm 0,24$	4	0,01	$2,19 \pm 0,64$	4	0,05	2,9—1,1 2,0—0,8
Через 21 день							
Правый желудочек	$7,58 \pm 0,87$	7	0,3	$2,58 \pm 0,26$	7	0,001	2,9—1,2
Левый желудочек, интактный	$6,72 \pm 1,00$	5	0,3	$2,58 \pm 0,34$	4	1	0,02
рубец	$2,64 \pm 0,33$	3	0,001	$1,65 \pm 0,65$	4	0,02	2,6—1,0
околорубцовая ткань	$6,35 \pm 0,76$	8	0,9	$2,74 \pm 0,42$	7	0,05	1,6—0,6 2,3—0,9

Достоверность различий та же, что в табл. 1

ляется в интактном участке левого желудочка, более резко — в околорубцовой ткани и резко в рубцовой ткани; активность Ca^{2+} -АТФазы подавляется с одинаковой интенсивностью во всем сердце, что ведет к увеличению коэффициента сопряжения между Na^+ , K^+ -АТФазой и Ca^{2+} -АТФазой. Введение обзидана и атропина не влияет на артериальное давление (139 ± 46 мм рт. ст.), нормализует ритм сердца (110 ± 22 уд/мин, $P < 0,02$), равномерно подавляет активность Na^+ , K^+ -АТФазы в интактных правом и левом желудочках (причем данные активностей ее выше, чем у здоровых собак при введении обзидана и атропина), в околорубцовой ткани, остается резко подавленной в рубцовой ткани, не отличаясь от данных при ишемии миокарда в тех же участках. Активность Ca^{2+} -АТФазы понижена во всем сердце, а в рубцовой и околорубцовой ткани сильнее, чем без введения лекарств. Равномерное подавление транспортных АТФаз выражается также в нормализации коэффициентов их сопряжения.

В стадии некролиза инфаркта миокарда — через 7 дней после перевязки венечных сосудов — на фоне нормализации артериального давления (110 ± 9 мм рт. ст., $P < 0,5$), ритма сердца (122 ± 7 уд/мин, $P < 0,3$), РОЭ (9 ± 1 мм в ч, $P < 0,8$), снижения лейкоцитоза (10890 ± 1126 в 1 мм^3 , $P < 0,1$) несколько уменьшаются явления электрической нестабильности сердца (табл. 2), нормализуется активность Na^+ , K^+ -АТФазы в правом и интактном участке левого желудочка, оставаясь сниженной в рубцовой и околорубцовой тканях. Активность Ca^{2+} -АТФазы подавляется в правом желудочке, в рубце и околорубцовой ткани, но восстанавливается в интактном левом желудочке, что сопровождается соответствующими изменениями коэффициентов сопряжения транспортных АТФаз. Введение обзидана и атропина нормализует артериальное давление (97 ± 23 мм рт. ст., $P < 0,4$) и ритм сердца (137 ± 14 уд/мин, $P < 0,6$); уменьшаются изменения ЭКГ, разница в активности Na^+ , K^+ -АТФазы между интактными участками правого и левого желудочков не снимается (причем в этом случае данные выше, чем при введении

обзидана и атропина здоровым собакам и не отличается от данных до введения лекарств). Активность Ca^{2+} -АТФазы до введения лекарств остается подавленной в правом желудочке, а с повышением КС_1 восстанавливается в интактных участках левого желудочка и в околорубцовой ткани, оставаясь низкой в рубцовой ткани, соответственно изменяются коэффициенты сопряжения АТФаз.

В стадии рубцевания инфаркта миокарда — через 21 день после перевязки венечных сосудов — при нормализации артериального давления (106 ± 8 мм рт. ст., $P < 0,2$), ритма сердца (90 ± 4 уд/мин, $P < 0,8$), РОЭ (11 ± 3 мм в ч, $P < 0,8$), содержания лейкоцитов (9290 ± 1107 в 1 мм^3 , $P < 0,7$) нормализуется ЭКГ и восстанавливается активность Na^+ , K^+ -АТФазы во всех участках сердца, кроме рубцовой ткани, где она остается подавленной. Активность Ca^{2+} -АТФазы остается подавленной во всех отделах сердца, соответственно изменяются коэффициенты сопряжения АТФаз.

Подавление активности транспортных АТФаз в зоне ишемии и в околорубцовой ткани объясняется структурными изменениями мембраны [7, 20, 22], в которую встроен фермент-регулятор — благодаря расстройству кровоснабжения и биоэнергетики митохондрий, вызванному расстройством взаимодействия симпатических и парасимпатических влияний на сердце [17], осуществляемых на уровне рецепторов [11, 23]. Применение бета-блокатора обзидана снимает явления электрической нестабильности сердца, действуя на ионный обмен, мембранные потенциалы [4, 16] и активность Na^+ , K^+ -АТФазы в сарколемме мышцы сердца [9]. Применение атропина улучшает кровоснабжение миокарда, устраняет эктопический очаг возбуждения [1] через синокаротидный рефлекс [7] и исключением рецепторов [24].

Все это создает условия для выравнивания активного транспорта ионов в различных участках миокарда в разные стадии развития инфаркта. Подавление активности Ca^{2+} -АТФазы (наблюдается в течение 3 недель) уже через час после перевязки левой венечной артерии и вены во всем сердце рассматривается как компенсаторная



реакция для ограничения поступления Ca^{2+} , что усиливает расслабление миокарда и гладких мышц сосудов,

способствующее улучшению гемодинамики в условиях поражения сердечной мышцы.

ЛИТЕРАТУРА

1. Каверина Н. В. Фармакология коронарного кровообращения, «Медицина», М., 1963.
2. Косицкий Г. И. Аfferентные системы сердца, «Медицина», М., 1975.
3. Куфлер С., Николс Дж. От нейрона к мозгу, «Мир», М., 1979.
4. Новицкий Н. С. Кардиология, IX, 4, 114—119, 1971.
5. Райкина М. Е., Шаргородский Б. М., Волленбергер А. Кардиология, 2, 83—89, 1978.
6. Цинцадзе К. И. Сб. тр. НИИ терапии МЗ СССР, IX, 1972, 47—54.
7. Цинцадзе К. И., Гзиришвили Н. А., Дзидзигури Л. М. Сб. тр. НИИ терапии МЗ СССР, VIII, 1. 1971, 69—76.
8. Цинцадзе К. И., Шапатава Ю. В. Кровообращение, XI, 6, 27—31, 1978.
9. Цинцадзе К. И., Шапатава Ю. В., Салуквадзе Н. С. Сб. тр. НИИ терапии МЗ СССР, XII, 1, 1978, 43—52.
10. Bergamoshi M. In: Neural Mechanisms in Cardiac Arrhythmias, N. Y., 1978, 139—154.
11. Brown A M In: Neural Mechanisms in Cardiac Arrhythmias, N. Y., 1978, 305—313.
12. Corr P. B., Gillis R. A. Amer. Heart J., 89, 6, 766—774, 1975.
13. Fiske C H., Subbarow Y. J. J. Biol. Chem., 66, 375—400, 1925.
14. Goldman R. H., Coltart D. J. Circulation, X, 830—838, 1973.
15. Hoffman B. F. In: Neural Mechanisms in Cardiac Arrhythmias, N. Y., 1978, 155—166.
16. Kahn M., Hamilton J. E. Amer. Heart J., 86, 3, 347—358, 1973.
17. Kent K M. In: Neural Mechanisms in Cardiac Arrhythmias, N. Y., 1978, 99—106.
18. Kunze D L. In: Neural Mechanisms in Cardiac Arrhythmias, N. Y., 1978, 359—364.
19. Lowry O. H. J. Biol. Chem., 193, 265—275, 1951.
20. Schwartz A. Amer. J. Cardiol., 32, 46—61, 1973.
21. Skou J. E. Bioenergetics, 4, 1—30, 1973.
22. Sulakhe P. V., Dhalla N. S. Exp. mol. Pathol., 18, 100—111, 1973.
23. Verrier R. L., Lown B. In: Neural Mechanisms in Cardiac Arrhythmias, N. Y., 1978, 75—85.
24. Watanabe A., Bailey J. C. In: Neural Mechanisms in Cardiac Arrhythmias, N. Y., 1978, 349—358.

გულის ფარმაკოლოგიური დენერვაციის გავლენა გულის კუმენის სარკოლემაში ტრანსკორტული ატმფაზების აქტივობაზე, მიოკარდის ინფარქტის დროს

ა. ცინცაძე, ი. შაპათავა

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

რ ე ზ ი უ მ ე

შესწავლილ იქნა ძალღების გულის კუნთის სარკოლემის ფრაქციაში Na^{+}, K^{+} და Ca^{2+} -ატმფაზის აქტივობა ნორმალურ პირობებში და ინფარქტის განვითარების სხვადასხვა სტადიაში და ამ აქტივობაზე ფარმაკოლოგიური დენერვაციის გავლენა. გულის მარცხენა გვირგვინოვანი არტერიისა და ვენის შუა მესამედის გადაკვანძვის

შემდეგ ვითარდება გულის ელექტრული არასტაბილობა, რომლის მიზეზიც უნდა იყოს ტრანსკორტული ატმფაზების აქტივობის სხვადასხვა დონე გულის ინტაქტურ უბანში, იშემიის ზონაში, ნაწიბურის ირგვლივ ქსოვილში და ნაწიბურში. ატროპინისა (1 მგ/კგ) და ოზბიდანის (1 მგ/კგ) ვენაში შეყვანის შედეგად გულის ფარმა-

კოლოგიური დენერვაცია თანაბრად აქვე-
ითებს ტრანსპორტული ატმვაზების აქტი-
ვობას გულის ყველა უბანში და სპობს
მის ელექტრულ არასტაბილურობას, —

გარდა ნაწიბურის მიდამოსი, რომელიც
არააგზნებადი შემაერთებული ქსოვილის-
გან შესდგება.

INFLUENCE OF PHARMACOLOGICAL DENERVATION OF THE HEART ON THE ACTIVITY OF Na⁺, K⁺-ATPase AND Ca²⁺-ATPase IN THE SARCOLEMMA OF THE HEART MUSCLE DURING MYOCARDIAL INFARCTION

K. I. TSINTSADZE, Yu. V. SHAPATAVA

Institute of Therapy, Georgian Ministry of Health, Tbilisi, USSR

S u m m a r y

It has been demonstrated that an hour, 3 and 7 days after ligation of the descendant branch of the left coronary artery and vein in their middle third there develops electrical instability of the myocardium which is underlied by different degrees of Na⁺, K⁺-ATPase and Ca²⁺-ATPase activities in ischemic zone, the zone of catrix and in pericatrixial tissue. In-

travenous injection of obsidane (1 mg/kg) and atropine (1 mg/kg) equally depresses the activity of Na⁺, K⁺-ATPase and Ca²⁺-ATPase, and abolishes the electrical instability of the heart muscle, normalyizing the heart rythm and its microcirculation, except of the catrix formed by non-excitabile connective tissue.



УДК 611.018.62.578.085.23

ЦИТОЛОГИЯ

**СТРУКТУРНЫЕ ИЗМЕНЕНИЯ СОМАТИЧЕСКИХ МЫШЦ
В ТКАНЕВОЙ КУЛЬТУРЕ В УСЛОВИЯХ
НЕДОСТАТОЧНОСТИ CO₂ И O₂**

Д. П. Мусеридзе, Ц. С. Цаишвили, И. К. Сванидзе

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

Поступила в редакцию 28.05.1981

Исследование структурных изменений соматических мышц в тканевой культуре в условиях недостаточности CO₂ и O₂ обнаружило появление характерных ультраструктурных нарушений, вслед за которыми следует ряд внутриклеточных регенераторных реакций, в виде увеличения числа митохондрий и их крист. Эти изменения носят компенсаторный характер и, по-видимому, связаны с процессами окислительного фосфорилирования.

Высокая пластичность эмбриональной соматической мышечной ткани в условиях тканевых культур обуславливает продолжение дифференцировки саркоплазматического ретикулула и Т-систем, слияние миобластов, в том числе в диссоциированных культурах, и формирование одноядерных мышечных трубочек. Процессы созревания

эмбриональной мышечной ткани идут в питательной среде, обогащенной 5% CO₂ и 95% O₂, что в условиях культуры обеспечивает аэробный путь окисления [1, 5, 3, 8, 6, 7].

Цель настоящей работы изучить изменения, происходящие в соматической мышце без предварительного обогащения среды CO₂ и O₂.

МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ

Исследовали эксплантаты бедренных мышц 14-дневных куриных эмбрионов через 4 и 8 дней культивирования. Кусочки мышц, размером 1 мм², культивировали на покровных стеклах, покрытых коллагеном, в камерах Максимова, методом висячей капли в питательной среде, содержащей: среду 199 (10%), гидролизат лактальбумина (10%), среду Игла (50%), лошадиную сыворотку (10%), куриный эмбриональный экстракт (20%) и глюкозу (1%). Кусочки ткани помещали на покровные стекла и культивировали при 37°C без обогащения питательной среды CO₂ и O₂. Культуры исследовались методом интерференционного контраста по Номарскому, а также в поляризационном микроскопе МИН-8.

Для электронномикроскопических исследований применялся метод, рекомендованный Бринклей и Чангом [4]. Покровные стекла с эксплантатами помещались в чашки Петри и фиксировались в 3%-ном глютаральдегиде на фосфатном буфере при комнатной температуре. Через 1 час клетки промывались в двух порциях фосфатного буфера и постфиксировались в 1%-ном растворе OsO₄ в течение 30 мин, после чего обезвоживались в восходящих спиртах и в смеси спирта и ацетона. Материал заключали в аралдит, предварительно помещенный в пластмассовые кольца толщиной 3 мм. Полимеризация сначала производилась при 37°C в течение 24 ч, а затем при 60°C. Для удаления покровного стекла материал после полиме-

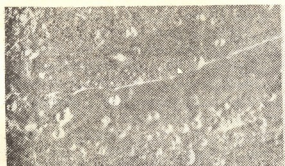
ризации помещался на несколько секунд в жидкий азот. Полученные на ультрамикротоме OmV₂ срезы контрастировали лимоннокислым свинцом

[10] и исследовали в электронном микроскопе JEM-100С при ускоряющем напряжении 80 кВ.

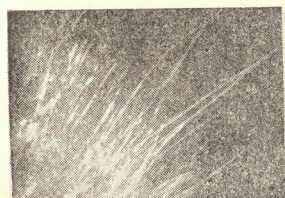
ПОЛУЧЕННЫЕ РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

Изучение структурной организации эмбриональных соматических мышц в среде, не обогащенной предвременно CO₂ и O₂, показало, что на начальных (4 дня), а также на более поздних этапах культивирования (8 дней) мышечная ткань сохраняет способность к дифференцировке.

Дальнейшая дифференцировка мышечных трубочек ведет к появлению свечения в поляризационном микроскопе. Свечение носит диффузный характер по всей длине трубочек и может быть вызвано как накоплением миозиноподобных белков, так и ориентированной укладкой молекул (рис. 1б). Сопоставление этих данных с литературными показало, что характер роста мы-



а



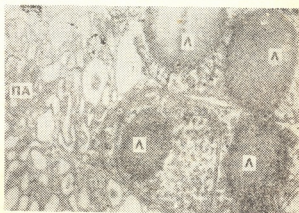
б

Рис. 1. Эксплантаты бедренной мышцы 14-дневного куриного эмбриона на разных этапах культивирования: а—цитоплазматический тяж в зоне роста эксплантата 4 дней культивирования (интерференционный контраст по Номарскому. об. 40; ок. 10); б—свечение мышечных трубочек мышечного эксплантата 8 дней культивирования в поляризованном свете (об. 20; ок. 40)

Процессы восстановления и созревания наиболее четко проявляются в области зоны роста на 8 сутки культивирования. Последнее выражается в миграции миобластов и образовании многочисленных мышечных трубочек, растущих радиально из эксплантата. Часть трубочек может сливаться и образовывать многоядерные цитоплазма-



а



б

Рис. 2. Ультраструктура миобластов зоны роста эксплантата мышечной ткани 4 дней культивирования: а—деструкция крист митохондрий (М); б—лизосомы (Л) и пластинчатый аппарат (ПА). $\times 15000^{\circ}$

тисленной ткани и основные этапы дифференцировки в культурах с питательной средой, не обогащенной CO₂ и O₂, не отличаются от процессов созревания

ния соматической эмбриональной мышечной ткани в культуре в условиях насыщения питательной среды CO_2 и O_2 . Однако изучение ультраструктурной организации миоцитов зоны роста и мышечной ткани срединных отделов эксплантата при недостаточности CO_2 и O_2 в питательной среде обнаружило изменения в тонкой структуре мышечных волокон.

обнаруживается сильное развитие пластинчатого комплекса (рис. 2 а, б).

По данным литературы недостаточность CO_2 вызывает заметные изменения и в диссоциированных культурах. Наблюдается ингибирование образования мышечных трубочек и пролиферации миобластов и их цитолиз. Отмечается также появление липоидных включений в миоблестах диссоциированных культур мышечной ткани [9].

Наблюдаемые регрессивные изменения мышечной ткани при дальнейшем культивировании (8 дней) сменяются выраженными компенсаторными процессами, проявляющимися в увеличении количества зерен гликогена, размеров митохондрий, числа крист, плотно заполняющих весь объем органоидов. Саркоплазма, находящаяся между миофибриллами, содержит большое количество митохондрий, настолько плотно расположенных, что последние обнаруживаются и в участках конечных расширений трубочек саркоплазматической сети. Поэтому типичные триады отсутствуют и сохраняется лишь Т-система (рис. 3 а). В отдельных областях периферии эксплантата наблюдаются типичное расположение митохондрий в выпячиваниях сарколеммы («арки») и каналцы продольной системы с выраженными конечными цистернами (рис. 3 б).

Структурные изменения сердечной мышцы в условиях организма, вызванные компенсаторными сдвигами в условиях гипоксии, включают активацию капиллярной системы и регенерацию некоторых компонентов мышечных клеток [2]. В тканевой культуре, в условиях недостаточности CO_2 и O_2 , компенсаторно-приспособительные изменения носят иной характер, поскольку полностью отсутствует реакция со стороны микроциркуляторной сети. В этом случае культивирование мышечной ткани ведет к большему развитию внутриклеточных регенераторных реакций, в основном в виде увеличения числа митохондрий и их крист. Эти изменения носят компенсаторный характер и, по-видимому, связаны с процессами окислительного фосфорилирования, обеспечивающего дальнейшую дифференцировку соматической мышечной ткани в культуре.

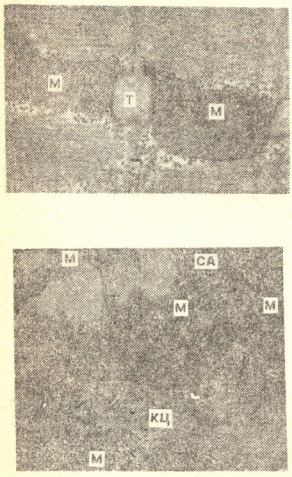


Рис. 3. Ультраструктура миобластов зоны роста эксплантата мышечной ткани 8 дней культивирования: а — митохондрии (М), Т-система (Т). $\times 20000$; б — сарколемма (СА), митохондрии (М), конечные цистерны (КЦ) $\times 15000$

На 4 день культивирования в эксплантатах можно наблюдать преимущественно процессы дезинтеграции, которые захватывают как периферию эксплантата, так и его центральные области. Наиболее характерным признаком является уменьшение числа крист в митохондриях вплоть до их почти полного исчезновения, а также появление многочисленных лизосом;

ЛИТЕРАТУРА

1. Тихомирова Т. И., Шестопалова И. М. *Арх. анат., гист. и эмбр.*, 51, 10, 22—30, 1966.
2. Цагарели З. Г. Ультраструктурный анализ деятельности сердца (в норме и при различных гипоксических состояниях), «Ганатлеба», Тбилиси, 1977.
3. Adamo S., Curci A., Molinaro M., Siracusa G., Monesi V. *Boll. Zool.*, 42, 1, 49—56, 1975.
4. Brinkley B. R., Chang J. P. *Embedding in Situ. Tissue culture. Method and applications.* Acad. Press, New York-London, 1973, 438—443.
5. Ezerman E. B., Ishikawa H. J. *Cell Biology*, 35, 2, p. 1 of 2, 405—418, 1967.
6. Fear J. J. *Anat.*, 124, 2, 437—444, 1977.
7. Knudsen K., Horwitz A. F. *Develop. Biol.*, 58, 2, 328—338, 1977.
8. Morris G. E., Piper M., Cole R. *Exp. Cell Res.*, 99, 1, 106—114, 1976.
9. Przybylski R. J., Bullaro J. C., McBride R. *Amer. J. Physiol.*, 237, 3, 166—176, 1979.
10. Reynolds J. J. *Cell Biol.*, 17, 208, 1963.

სომატური კუნთების სტრუქტურული ცვლილებები ქსოვილის კულტურაში CO₂-ისა და O₂-ის უკმარობისას

დ. მუსერიძე, ც. ტაიშვილი, ი. სვანიძე

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

რ ე ზ ი უ მ ე

შესწავლილ იქნა ქათმის 14-დღიანი ემბრიონის თევზის კუნთის სტრუქტურული ცვლილებები, ქსოვილის კულტივირების პირობებში, CO₂-ისა და O₂-ის უკმარობისას. აღმოჩნდა, რომ კუნთოვანი ქსოვილი ამგვარ პირობებში თავდაპირველად რეგრესიულ ცვლილებებს განიცდის. კულტივირების გახანგრძლივებით, პირიქით, თავს იჩენს რეგენერაციული პროცე-

სები: იზრდება მიტოქონდრიების ოდენობა და რიცხვი, და ისინი მჭიდროდ არიან განლაგებულნი მიოფიბრილებს შორის. ამასთან ერთად იზრდება კრისტების რიცხვიც. ამ ცვლილებებს კომპენსატორული ხასიათი აქვს და ეს ალბათ დაკავშირებული უნდა იყოს ქანგვითი ფოსფორილირების პროცესებთან.

STRUCTURAL CHANGES OF THE SOMATIC MUSCLE IN CELL TISSUE CULTURE UNDER CONDITIONS OF CO₂ AND O₂ DEFICIENCY

D. P. MUSERIDZE, Ts. S. TSAISHVILI, I. K. SVANIDZE

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

S u m m a r y

Structural changes of the somatic muscle from 14-day old chick embryos in tissue culture were studied under conditions of CO₂ and O₂ deficiency. Compensatory processes evi-

denced by the increase of the number and size of closely packed mitochondria and the number of cristae were observed during cultivation.



УДК 616.127.005.8

ПАТОЛОГИЧЕСКАЯ МОРФОЛОГИЯ

ВЛИЯНИЕ НЕЙРОЛЕПТАНАЛЬГЕЗИИ НА КИСЛОТНО-ЩЕЛОЧНОЕ СОСТОЯНИЕ КРОВИ И ОКИСЛИТЕЛЬНО-ВОССТАНОВИТЕЛЬНЫЕ ПРОЦЕССЫ В ОКОЛОИШЕМИЧЕСКОЙ ЗОНЕ ПРИ КАРДИОГЕННОМ ШОКЕ В ЭКСПЕРИМЕНТЕ

Н. Г. Гордадзе, Л. Г. Мачаидзе

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

Поступила в редакцию 02.06.1981

На экспериментальной модели кардиогенного шока была изучена динамика изменения кислотно-щелочного состояния крови при шоке и лечения его нейролептанальгезией (НЛА). Развитие кардиогенного шока сопровождается глубоким декомпенсированным метаболическим ацидозом, который полностью корригируется препаратами для НЛА. Соответственно улучшается состояние сократительного миокарда, снижается удельный вес анаэробного энергообразования и преобладает окислительное фосфорилирование, что способствует ограничению размера зоны некроза в миокарде и улучшает сократительную способность сердечной мышцы.

Метаболический ацидоз и тканевая гипоксия, возникающие при инфаркте миокарда, осложненном кардиогенным шоком, снижают сократительную способность сердечной мышцы и усугубляют тяжесть шока [7, 4]. При неосложненном инфаркте миокарда НЛА снижает альвеоларно-артериальный

градиент для кислорода, гипоксемию и метаболический ацидоз [2].

Целью нашей работы было изучение влияния нейролептанальгезии на кислотно-щелочное состояние крови и химизм ишемизированного миокарда при экспериментальном кардиогенном шоке.

МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Эксперименты были проведены на 10 беспородных собаках с начальной массой тела 12—16 кг. Кардиогенный шок моделировали на ненаркотизированных животных по модифицированной методике И. Е. Ганелиной [1] и Ю. С. Чечулина [6]. Собакам вводили 3—5 мг/кг новодрина (изопротилнорадреналин) внутримышечно, трехкратно, с интервалом 48 ч. Спустя 3—6 недель после того, как у животных развивался «новодриновый кардиосклероз», под эфирно-кислородным наркозом вскрывали грудную клетку и накладывали провизорную лигатуру в средней трети передней межреберной ветви левой венечной арте-

рии. Через 5 дней после операции на бодрствующем животном производили постепенное сужение просвета ветви венечной артерии, в результате чего развивался инфаркт миокарда, осложненный кардиогенным шоком. В течение эксперимента регистрировались ЭКГ, артериальное давление и частота дыхания животного. Основными критериями шока являлись данные ЭКГ, падение максимального и минимального артериального давления на 30—35% от исходного, а пульсового — до 25—20 мм рт. ст. После стабилизации всех признаков кардиогенного шока проводили НЛА смесью 0,005%-ного раствора фентанила

(0,01 мг/кг) и 0,25%-ного раствора дроперидола (0,5 мг/кг). Контрольную группу составили животные с нелеченным кардиогенным шоком. Кровь для исследования кислотно-щелочного состояния брали из бедренной артерии в анаэробных условиях до введения новодрина, до и после кардиогенного шока и после НЛА. Исследование проводили на аппарате AVL. Изучали следующие параметры: pH крови, PCO_2 , АВ, ВВ, ВЕ, PO_2 и SO_2 — насыщение гемоглобина кислородом; исследование должной концентрации бикарбонатных ионов (ДАВ) проводили по методике, предложенной Г. С. Шония [5].

Животных забивали спустя 1 ч после введения фентанила и дроперидола. Материал для гистохимического исследования брали из околошлемической зоны миокарда. Наличие гликогена в сердечной мышце определяли по методу Шабаша, активность ферментов НАД, НАДФ, СДГ и ЛДГ — реакцией нитро-синий-тетразоль.

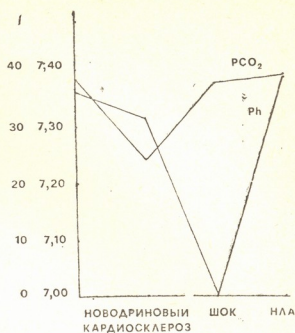


Рис. 1. Динамика изменения pH крови и парциального давления углекислого газа (PCO_2 мм рт. ст.) при «новодриновом кардиосклерозе», кардиогенном шоке и лечении его нейролептанальгезией

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

Как видно из табл. 1, «новодриновый кардиосклероз» сопровождался развитием декомпенсированного метаболического ацидоза ($pH=7,316$, $BE=$

$\pm 1,53$, исходное $BE=43,9 \pm 1,31$) и бикарбонатных ионов ($AB=12,02 \pm 0,44$ мэкв/л, исходное $AB=21,2 \pm 0,30$ мэкв/л), однако гипоксемия не разви-

Таблица 1
Изменения кислотно-щелочного состояния крови при экспериментальном кардиогенном шоке и его лечении препаратами для НЛА ($M \pm m$)

Этапы исследования	Параметры кислотно-щелочного состояния							
	pH	PCO_2 мм рт. ст.	АВ мэкв/л	ВВ мэкв/л	ВЕ мэкв/л	ДАВ мэкв/л	PO_2 мм рт. ст.	SO_2 %
Исходное состояние	7,36 $\pm 0,001$	38,02 $\pm 1,8$	21,2 $\pm 0,30$	43,9 $\pm 1,31$	-2,0 $\pm 0,91$	21,7 $\pm 0,32$	117,2 $\pm 1,11$	97,3 $\pm 0,21$
Новодриновый «кардиосклероз»	7,316 $\pm 0,063$ $p < 0,001$	24,12 $\pm 2,9$ $p < 0,001$	12,02 $\pm 0,44$ $p < 0,001$	33,88 $\pm 1,53$ $p < 0,001$	-12,78 $\pm 1,09$ $p < 0,001$	11,43 $\pm 0,51$ $p < 0,001$	141,3 $\pm 0,68$ $p < 0,001$	97,52 $\pm 0,35$ $p < 0,001$
Кардиогенный шок	7,049 $\pm 0,065$ $p < 0,01$	35,92 $\pm 0,06$ $p < 0,001$	10,02 $\pm 0,51$ $p < 0,01$	26,58 $\pm 1,88$ $p < 0,01$	-19,88 $\pm 1,70$ $p < 0,01$	2,64 $\pm 0,32$ $p < 0,001$	119,1 $\pm 0,40$ $p < 0,001$	95,88 $\pm 0,20$ $p < 0,01$
Нейролептанальгезия	7,36 $\pm 0,050$ $p < 0,001$	37,3 $\pm 1,37$ $p < 0,001$	19,7 $\pm 2,4$ $p < 0,001$	43,4 $\pm 1,6$ $p < 0,001$	-2,5 $\pm 1,26$ $p < 0,001$	21,26 $\pm 0,62$ $p < 0,001$	116,5 $\pm 0,40$ $p < 0,001$	96,8 $\pm 0,23$ $p < 0,001$

$= -12,78 \pm 1,09$ мэкв/л, в исходном состоянии $pH=7,36$, $BE=-2,0 \pm 0,91$); снижалась общая концентрация буферных оснований крови ($BB=33,88 \pm$

валась ($PO_2=141,3 \pm 0,68$, $SO_2=97,52 \pm 0,35$, исходное $PO_2=117,2 \pm 1,11$ мм рт. ст., $SO_2=97,3 \pm 0,21\%$), благодаря гипервентиляции (частота

дыхания 40 в мин), о чем свидетельствовала гипокапния ($PCO_2 = 24,12 \pm 2,9$ мм рт. ст., исходное $PCO_2 = 38,2 \pm 1,8$). Сохранялось постоянство осмолярности крови, подтверждаемое отсутствием реабсорбции бикарбонатных ионов ($AB = 12,02 \pm 0,44$, $ДАВ = 11,43 \pm 0,51$).

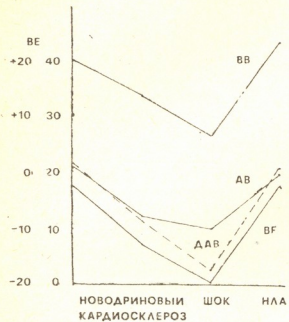


Рис. 2. Изменения избытка оснований (BE, мэкв/л), буферных оснований цельной крови (BV, мэкв/л), истинных бикарбонатов плазмы (AB, мэкв/л) и должной концентрации бикарбонатных ионов (ДАВ, мэкв/л) при «новодриновом кардиосклерозе», кардиогенном шоке и лечении его нейролептанальгезией

Активность ферментов СДГ, НАД, НАДФ и ЛДГ в сердечной мышце при «новодриновом кардиосклерозе» была мозаичной; наряду с высокой активностью и фиолетовой окраской гранул диформаза местами наблюдались мышечные волокна с гранулами светло-синего цвета, или совсем лишенные продукта реакции. Сосуды малого калибра и соединительная ткань давали выраженную реакцию на все ферменты, кроме СДГ. Отмечалась относительно высокая активность лактатдегидрогеназы и менее выраженная — СДГ, НАД и НАДФ диафоза, что указывало на увеличение энергообразования за счет анаэробноза, в частности гликолиза. Об этом же свидетельствовало усиленное потребление гликогена и снижение его содержания в мышечных волокнах.

Развивающиеся на этом фоне инфаркт миокарда и кардиогенный шок сопровождались резким декомпенси-

рованным метаболическим ацидозом ($PH = 7,049 \pm 0,065$). Частота дыхания еще возрастала — 80 в мин, однако, очевидно, дыхание было более поверхностным, так как оксигенация уменьшалась ($PO_2 = 119,1 \pm 0,40$, $SO_2 = 95,88 \pm 0,20$). Отсутствовала компенсация со стороны дыхательного компонента ($PCO_2 = 35,92 \pm 0,06$), резкая убыль оснований указывала на глубокий метаболический ацидоз ($BE = -19,88 \pm 1,70\%$) и тканевую гипоксию. Общая концентрация буферных оснований крови и количества бикарбонатных ионов были значительно уменьшены ($AB = 10,02 \pm 0,51$, $BV = 26,58 \pm 1,88$). Более низкие цифры должной концентрации бикарбонатных ионов в плазме крови ($ДАВ = 2,46 \pm 0,32$) указывали на снижение кровотока в почках и их фильтрационной функции, вследствие чего увеличивалась реабсорбция бикарбонатов.

Количество гликогена в околошумической зоне при кардиогенном шоке резко снижалось. Гликоген выяв-

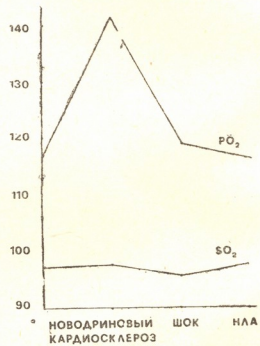


Рис. 3. Изменения парциального давления кислорода (PO_2 мм рт. ст.) и насыщения гемоглобина кислородом (SO_2 , %) при «новодриновом кардиосклерозе», кардиогенном шоке и лечении его нейролептанальгезией

лялся в виде мелких пылевидных зерен или крупных глыбок, расположенных субсарколеммально. Встречались как отдельные мышечные волокна, так и целые пучки их, полностью лишенные гликогена.

Во время шока резко снижалась ак-



тивность ферментов НАД и НАДФ диафораз и СДГ. НАД и НАДФ диафоразы давали синюю окраску саркоплазмы с редкими, окрашенными в синий цвет полиморфными гранулами формазана. В стенках кровеносных сосудов обнаруживалась реакция на СДГ в виде мелких зерен формазана, окрашенных в интенсивно синий цвет. В изучаемой зоне резко возрастала активность лактатдегидрогеназы. Продукт реакции выявлялся в виде мелких синих зерен на темно-фиолетовом фоне закрайки саркоплазмы.

Таким образом, кардиогенный шок сопровождался развитием глубокого декомпенсированного метаболического ацидоза и тканевой гипоксии, которые являются сильными разобщающими факторами для тканевого дыхания, что приводит к подавлению окислительного фосфорилирования и активизации анаэробного пути энергообразования в околошшемической зоне.

Под влиянием НЛА наблюдалось улучшение кислотно-щелочного состояния крови ($\text{pH} = 7,36 \pm 0,050$), избыток оснований резко увеличивался по сравнению с шоком ($\text{BE} = -2,9 \pm 1,26$), общая концентрация оснований крови и бикарбонатных ионов приближалась к норме ($\text{BV} = 43,4 \pm 1,6$, $\text{AB} = 19,7 \pm 2,4$). На улучшение кровотока в почках и их фильтрационной функции указывало уменьшение реабсорбции бикарбонатных ионов ($\text{ДАВ} = 21,36 \pm 0,62$); частота дыхания уменьшалась ($30-25$ в мин), оксигенация находилась в пределах нормы ($\text{PO}_2 = 116,6 \pm 0,40$, $\text{SO}_2 = 96,8 \pm 0,23$), несколько возрастал респираторный компонент ($\text{PCO}_2 = 37,3 \pm 1,37$).

На фоне НЛА увеличивались содержание и активность СДГ, НАД и НАДФ диафораз в околошшемической зоне. Активность СДГ проявлялась в зернистой и линейной форме отложения формазана, имеющих интенсивно

фиолетовый цвет субсарколеммально и темно-фиолетовый — в глубине волокон. Активность НАД и НАДФ диафораз была более мозаичной, в околошшемической зоне чередовались участки с повышенной, умеренной и пониженной активностью ферментов, на фоне фиолетовой закрайки саркоплазмы отмечался осадок продукта реакции в виде мелких и крупных точек, отложенный линейной формы и конгломератов темно-синего цвета. Явно снижалась активность лактатдегидрогеназы, она проявлялась в виде мелких синих зерен на бледно-синем фоне саркоплазмы.

При лечении шока препаратами для НЛА в околошшемической зоне отмечалось более равномерное распределение гликогена — он был расположен в виде мелких и крупных зерен субсарколеммально.

Результаты исследования показали, что нейролептанальгезия при кардиогенном шоке полностью корригировала метаболический ацидоз. Механизм этого действия заключается, очевидно, в α -блокирующем эффекте НЛА [3], который ликвидирует периферическую вазоконструкцию, возникающую при кардиогенном шоке.

В результате происходит снижение тканевой гипоксии, улучшаются кровоснабжение и фильтрационная функция почек, и, таким образом, разрывается «порочный круг» сердечной недостаточности. Соответственно улучшается состояние сердечной мышцы, что выявляется даже в околошшемической зоне по характеру распределения, содержания и активности ферментов. Снижается удельный вес анаэробного энергообразования и преобладает окислительное фосфорилирование, что способствует ограничению размера зоны некроза в миокарде и улучшает сократительную способность сердечной мышцы.

ЛИТЕРАТУРА

1. Ганелина И. Е., Бриккер В. Н. Кардиология, 10, 12, 42—45, 1970.
2. Закин А. М. Нейролептанальгезия в остром периоде инфаркта миокарда под контролем функции дыхания, Автореф. канд. дисс., М., 1979.
3. Кузин М. И., Ефимова Н. В. Нейролептанальгезия в хирургии, «Медицина», М., 1976.
4. Хомазюк А. И., Фетисова Т. В. В сб.: О проблемах микроциркуляции, Тез. докл., М., 1977, 112.
5. Шония Г. С. Мат. симпозиума по клинической биохимии, Иваново, 1970, 17—19.
6. Чечулин Ю. С., Поврежденное сердце, «Медицина», М., 234—236
7. Grosser K. Therapiewoche, Bd. 22, 1240—1266, 1972.

ნეიროლეპტანალგეზიის გავლენა სისხლის მჟავა-ტუტოვან
წონასწორობასა და იზემიის ახლო ზონაში ჟანგვა-
ალღბენით პროცესებზე, ექსპერიმენტული კარდიოგენული
შოკის დროს

ნ. გორდაძე, ლ. მაჩაიძე

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

რ ე ზ ი უ მ ე

შესწავლილ იქნა დროპერიდოლისა და ფენტანილის გავლენა ძალის სისხლის მჟავა-ტუტოვან წონასწორობაზე და გულის კუნთზე — კარდიოგენული შოკით გართულებული მიოკარდის ექსპერიმენტული ინფარქტის დროს.

კარდიოგენული შოკის დროს ვითარდებოდა ღრმა მეტაბოლური აციდოზი კომპენსაციის გარეშე, რის გამოც იშემი-

ის ახლო ზონაში ხდებოდა ჟანგვითი ფოტორილირების დათრგუნვა და ენერჯის წარმოქმნა ძირითადად გლიკოლიზის გზით მიმდინარეობდა.

ნეიროლეპტანალგეზია იწვევდა მეტაბოლური აციდოზის სრულ კორექციას, რასაც საფუძვლად უდევს მისი α -მაბლოკირებელი მოქმედება. ამის გამო ჰიპოქსია იშემიის ახლო ზონაში მცირდებოდა.

INFLUENCE OF NEUROLEPTOANALGESIA ON BLOOD ACID-BASE BALANCE AND REDOX PROCESSES IN PREISCHEMIC ZONE UNDER THE EXPERIMENTAL CARDIOGENIC SHOCK

N. G. GORDADZE, L. G. MACHAIDZE

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

S u m m a r y

Study of the acid-base balance and histochemical changes in preischemic zone was made in 10 dogs with experimental myocardial infarction and cardiogenic shock treated with neuroleptoanalgesics (NLA).

In all cases of cardiogenic shock

there developed deep decompensated metabolic acidosis, which was corrected with NLA. It was established also that NLA exerts a protective effect on the ischemised myocardium and prevents the spread of ischemic lesion.

УДК 616.831:616.151.5

ПАТОЛОГИЧЕСКАЯ МОРФОЛОГИЯ

РОЛЬ ГЕМОКОАГУЛЯЦИОННЫХ НАРУШЕНИЙ В ПАТОГЕНЕЗЕ ПОВРЕЖДЕНИЯ ГОЛОВНОГО МОЗГА В ПОСТРЕАНИМАЦИОННОМ ПЕРИОДЕ

А. В. Хучуа

НИИ экспериментальной и клинической хирургии МЗ ГССР, Тбилиси

Поступила в редакцию 27.08.1981

Результаты комплексного исследования свидетельствуют о важном значении в развитии патологических изменений головного мозга в постренимационном периоде распространенного внутрисосудистого свертывания крови и кровонезлияния, которые больше выражены в структурах гипоталамуса и продолговатого мозга, чем в ткани коры больших полушарий, гиппокампа и мозжечка. Повреждение нервных клеток ЦНС в постренимационном периоде обусловлено также гемореологическими осложнениями (агрегация эритроцитов), которые преимущественно локализируются аналогично гемокоагуляционным нарушениям в каудальных отделах головного мозга. Гепарин предупреждает, а также лечит как тромбо-геморрагические, так и гемореологические осложнения.

Значение тромбо-геморрагических осложнений в патогенезе повреждения головного мозга в постренимационном периоде до настоящего времени не выяснено. Одни авторы не смогли обнаружить существенного влияния внутрисосудистого свертывания крови на восстановление полноценного кровообращения в мозгу и улучшение выживаемости животных после ишемии и терминального состояния организма [6, 8, 12, 13, 18]. Другие, наоборот, выявили корреляцию между тяжестью постишемической коагулопатии и восстановлением кровотока и электрофизиологических функций головного мозга [17], а также показали значение предварительной гепаринизации в повышении выживаемости животных [2, 4, 5, 9, 10, 15, 16].

Приведенные работы в отношении значения гемокоагуляционных осложнений в патогенезе нарушения микроциркуляции головного мозга в постренимационном периоде преимущественно носят предположительный характер. Они или вовсе не содержат данные морфологических исследова-

ний, или же включают результаты гистологического изучения лишь некоторых внутренних органов, а головной мозг, в отношении хотя бы полуколичественного изучения распределения в его различных отделах гемокоагуляционных нарушений, ни разу не являлся объектом специального исследования.

Для достоверного выяснения роли гемокоагуляционных осложнений в патогенезе нарушения микроциркуляции головного мозга целесообразно провести комплексное исследование с обязательным использованием адекватных морфологических методов.

Цель настоящей работы — выяснение роли тромбо-геморрагических осложнений в патогенезе повреждения ткани различных участков головного мозга и других органов при смертельной кровопотере и в постренимационном периоде на основании комплексной оценки результатов морфологических, гемокоагулологических и клинических исследований, а также изучение эффективности гепарина в предупреждении и лечении данных осложнений.

Опыты проведены на 72 собаках-самцах массой от 8 до 28 кг. Клиническую смерть вызывали кровопусканием из бедренной артерии. Продолжительность умирания составляла от 5 до 15 мин, длительность клинической смерти — 5 или 7,5 мин.

Реанимационный комплекс включал внутриартериальное нагнетание крови, наружный массаж сердца (НМС) и искусственную вентиляцию легких (ИВЛ). Переливание крови и НМС осуществляли реаниматором собственной конструкции [11], а ИВЛ — аппаратом РО-2.

Проведенные эксперименты разделены на 3 серии. Контрольная серия состоит из 2-х групп. Каждая группа включает по 6 собак, гепаринизированных и негепаринизированных, забитых тотчас после наступления клинической смерти от кровопотери. Во второй серии объединены 13 негепаринизированных собак, которых после клинической смерти оживляли комплексным методом с внутриартериальным переливанием негепаринизированной крови (I группа, 5 собак) или гепаринизированной крови (II группа, 8 собак). В третьей серии 47 гепаринизированных собак оживляли комплексным методом с использованием внутриартериального нагнетания гепаринизированной крови после 5-минутной (I группа, 31 собака) или 7,5-минутной (II группа, 16 собак) клинической смерти.

Во время опыта регистрировали артериальное давление, ЭКГ и ЭЭГ. Учитывали частоту возникновения фибрилляции желудочков и выживаемость. Исследовали систему свертывания крови: время свертывания нативной крови по методу Ли и Уайта — для комплексной характеристики ее коагулирующей активности; время рекальцификации плазмы по методу Хауэла и толерантность крови к гепарину по Марба и Винтерштейну —

для характеристики состояния I фазы гемостаза; уровень протромбина по одноступенчатому методу Квика, тромбиновое время и время свободного гепарина по Сирман — для оценки гемостаза во II фазе. Об изменении гемостаза в III фазе судили по внешнему виду сгустка выпавшего фибрина и по его постоянному весу. Определяли также наличие фибриногена Б по методу Лайонса. Процесс ретракции кровяного сгустка исследовали по методу Горани, фибринолиз плазматического сгустка — по методу Ратнова.

Морфологически изучали различные участки головного мозга (кора больших полушарий, гиппокамп, мозжечок, продолговатый мозг, гипоталамус с гипофизом), а также ряд внутренних органов — сердце, печень, почки, тонкая кишка. Материал фиксировали в 12%-ном нейтральном формалине, растворе Карнуа и Буэна и заливали в парафин. Срезы окрашивали гематоксилин-эозином, пикрофуксинном, азуром II-эозином при pH 6,8, паральдегид-фуксинном по Гомори-Гальми. Для идентификации фибрина применяли метод Маллори-Шуенинова, тетразониевую реакцию и окраску амидо-черным 10Б после предварительной обработки срезов бензоилхлоридом. Для характеристики морфологической выраженности тромбо-геморрагических осложнений пользовались 4-балльной градацией. У 6 собак изучали проходимость микроциркуляторного русла мозга после 5-минутной клинической смерти. Для этого производили перфузию сосудов головного мозга смесью туши с желатином через аорту под давлением 110 мм рт. ст.

Для электронно-микроскопического исследования кусочки двигательной коры головного мозга обрабатывали по общепринятой методике. Ультратонкие срезы просматривали в электронном микроскопе JEM-100-C.

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

Опыты первой серии показали, что острая кровопотеря у негепаринизированных собак, в отличие от гепаринизированных, характеризуется диссоциацией гемокоагулограммы: гиперкоагуляцией в первой фазе гемостаза (укорочение времени спонтанного

свертывания крови и времени рекальцификации) и частичной гипокоагуляцией в третьей фазе (снижение уровня фибриногена) — рис. 1. Вместе с этим у негепаринизированных собак отмечается положительный тест на фибриноген Б, указывающий на

развитие тромбемии [1] и возрастание гепариновой и фибринолитической активности крови. Сравнительное морфологическое изучение отдельных органов гепаринизированных и негепаринизированных собак показало, что внутрисосудистое свертывание крови значительно более выражено у негепаринизированных животных ($P < 0,05$). У последних обнаруживаются также нарушения проходимости микроциркуляторного русла (рис. 2) и феномен блокады поступления нервосекрета в кровеносное русло (рис. 3). По степени выраженности тромбо-геморрагических осложнений из участков головного мозга по нашим наблюдениям на первом месте стоит гипоталамус ($2,2 \pm 0,4$) и продолговатый мозг ($2,0 \pm 0,3$), за ними с одинаковой степенью наличия внутрисосудистого свертывания крови — мозжечок и гиппокамп ($1,6 \pm 0,2$), а затем кора головного мозга ($1,4 \pm 0,2$). Из внутренних органов внутрисосудистое свертывание крови в печени ($3,2 \pm 0,2$) и почках ($2,8 \pm 0,4$) выражено более, чем в тонкой кишке ($2,0 \pm 0,3$) и сердце ($1,4 \pm 0,2$).

Эксперименты I группы второй серии показали, что негепаринизированных собак, находящихся в состоянии клинической смерти от кровопотери, трудно, или даже невозможно, оживить, если в качестве трансфузной среды используется негепаринизированная кровь. В наших опытах кровь стабилизировалась по рецепту ЦОЛИПК 12А. У этих собак, как правило, развивается трудноустраняемая фибрилляция желудочков. При морфологическом исследовании отдельных органов, в том числе различных участков головного мозга и сердца, отмечаются распространенные внутрисосудистые свертывания и мелкие кровоизлияния (рис. 4 а, б). Значительное число клубочковых сосудов почек, многие сосуды печени, тонкой кишки и сердца, в том числе атриоventрикулярный узел, а также мелкие сосуды различных отделов мозга, особенно гипоталамической области ($2,8 \pm 0,4$), оказываются закупоренными фибриновыми эмболиями.

Следовательно, закономерное возникновение фибрилляции желудочков при оживлении в этих опытах можно истолковать как клиническое прояв-

ление избыточного потребления фибриногена в крови сосудов сердца и особенно его проводящей системы. Образующийся в процессе умирания и клинической смерти фибрин забивает некоторые участки микроциркуляторного русла миокарда и проводящей системы сердца, вызывая тем самым мелкоочаговые нарушения циркуляции крови в сердце. Предполагают, что неравномерное снабжение кислородом миокарда, приводит к фибрилляции желудочков вследствие электрической нестабильности [3, 7].

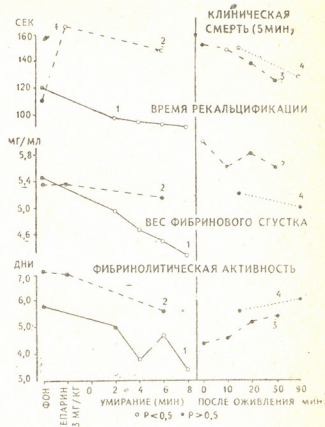


Рис. 1. Динамика изменения времени рекальцификации, веса фибринового сгустка и фибринолитической активности в процессе умирания от кровопотери и после оживления организма: 1 и 2 — умирание негепаринизированных и гепаринизированных собак; 3 и 4 — оживление гепаринизированной кровью негепаринизированных и гепаринизированных собак

Существенно уменьшается частота возникновения фибрилляции желудочков и повышается частота оживления и выживания негепаринизированных собак, если при комплексном методе оживления используется гепаринизированная кровь (II серия, II группа). Переливание гепаринизированной крови выравнивает диссоциацию коагулограммы: удлиняется время реакции

I фазы гемостаза, которое в процессе смертельной кровопотери было укорочено; резко повышается и уровень фибриногена, который из-за кровопотери был сниженным; вслед за трансфузией проба на патологический фибриноген Б становится отрицательной и нормализуется повышенная фибринолитическая активность крови. Морфологическое исследование показало, что у этих собак внутрисосудистые свертывания крови и кровозлияния выражены в гораздо меньшей степени, чем у собак, которых пытались оживить переливанием негепаринизированной крови.

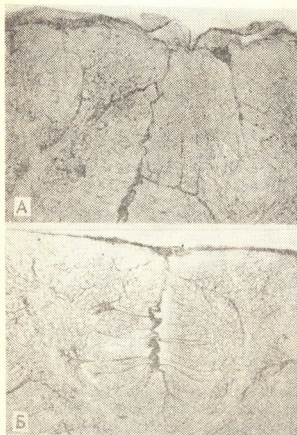


Рис. 2. Кора мозжечка: А — негепаринизированной и Б — гепаринизированной собаки после смертельной кровопотери (у негепаринизированной собаки отмечаются более обширные участки нарушения рециркуляции); инъекция туши с желатином в восходящую аорту. $\times 45$

Самый высокий показатель оживления и низкий процент возникновения фибрилляции желудочков, а также меньшая степень внутрисосудистого свертывания крови мы смогли

констатировать в опытах, где массивная кровопотеря осуществлялась в условиях предварительной гепаринизации, а для оживления использовали кровь, стабилизированную гепарином (третья серия). У 10 собак этой серии клиническая смерть была удлинена до 7,5 мин, а 9 из них удалось оживить.

Внутрисосудистые свертывания блокируют микроциркуляцию в некоторых участках мозга в постреанимационном периоде и вследствие этого наступает гибель клеток в соответствующих зонах. Даже если с помощью вторичного фибринолиза проходимость мозговых сосудов восстановится, то в ЦНС все же успевают развиться дистрофические и некробиотические изменения нейронов. Временные тромбы, по-видимому, способны вызывать постоянные эффекты, особенно в таких чувствительных к гипоксии клетках, какими являются нейроны ЦНС.

Таким образом, результаты морфологических, гемокоагулологических и клинических исследований доказали, что тромбо-геморрагические осложнения имеют большое значение в патогенезе повреждения головного мозга и других органов при смертельной кровопотере и в постреанимационном периоде.

Внутрисосудистые изменения крови, кроме свертывания, проявляются и в агрегации эритроцитов (рис. 4В). Как и тромбо-геморрагические осложнения, они наиболее всего выражены в структурах гипоталамуса и продолговатого мозга. Кора больших полушарий поражается не так сильно, как гипоталамические структуры, а гиппокамп и мозжечок — еще меньше. Из внутренних органов эти изменения наибольшее распространение имеют в печени и почках.

По данным собственных исследований нарушение микроциркуляции головного мозга в раннем восстановительном периоде меньше зависит от нарушения структур гематоэнцефалического барьера (эндотелия, базальной мембраны, астроцитов) — (рис. 4Г), чем от гемокоагуляционных и гемореологических изменений.

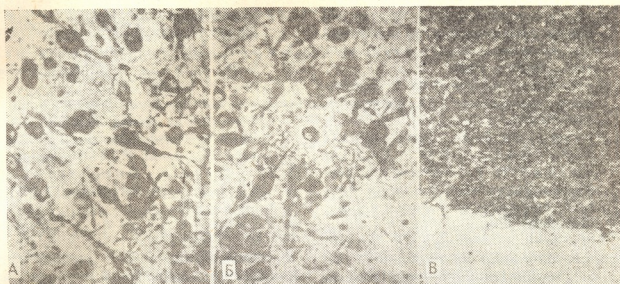


Рис. 3. Гипоталамо-гипофизарная невросекреторная система при умирании собак от кровопускания без введения гепарина. Феномен блокады невросекрета; А — супраоптическое ядро; Б — паравентрикулярное ядро. $\times 300$; Г — неврогипофиз. $\times 160$. Окраска паральдегидфуксином и смесью Гельми

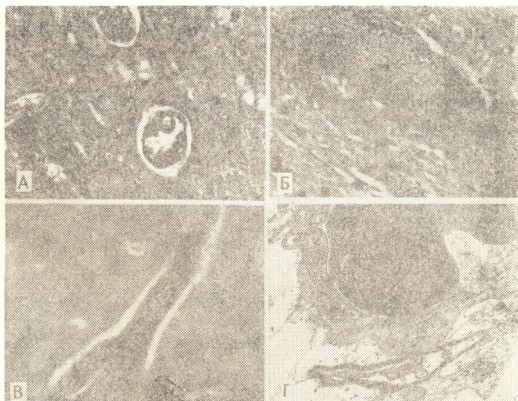


Рис. 4. Основные проявления сосудистых нарушений головного мозга в постреанимационном периоде: А — внутрисосудистое свертывание крови; гипоталамус. $\times 500$; Б — кровоизлияние; двигательная кора головного мозга. $\times 420$; В — агрегация эритроцитов и периваскулярный отек; гиппокамп. $\times 600$; окраска амидо-черным 10Б; Г — слабое набухание отростков астроцитов и базального слоя капилляра; электронограмма. $\times 8300$



1. Безарашвили Л. Г. О профилактике и лечении коагулопатического состояния, развивающегося при острой кровопотере в эксперименте. Автореф. канд. дисс., Тбилиси, 1968.
2. Ионкин Г. А. В кн.: Тр. Сталинградского мединститута, III, Сталинград, 1940, 61—99.
3. Иоселиани Г. Д., Шарашидзе Л. К., Хучуа А. В., Буджиашиვილი В. К. Изолированная перфузия головного мозга и сердца в условиях умеренной гипотермии, «Сабчота Сакартвело», Тбилиси, 1966.
4. Лунец Е. Ф. Исследования патологических реакций, развивающихся в ткани головного мозга при острой ишемии. Автореф. докт. дисс., М., 1971.
5. Мешалкин Е. Н., Фуфин В. И., Дмитриева В. А., Алехина Р. Г., Зельман В. Л. В кн.: Гепарин, «Медицина», Л., 1969, 138—142.
6. Петров И. Р., Васадзе Г. Ш. Необратимые изменения при шоке и кровопотере, «Медицина», Л., 1972.
7. Райскина М. Е., Онищенко Н. А., Шаргородский Б. М., Фельд Б. Н., Расторгуев Б. П. В кн.: Фибрилляция и дефибрилляция сердца, «Медицина», М., 1966, 11—16.
8. Сафар П. В кн.: Современные проблемы реаниматологии, «Медицина», М., 1980, 74—86.
9. Сухоруков В. П., Бельченко Д. И., Симкин Д. С. Булл. экспер. биол., 7, 27—29, 1973.
10. Хучуа А. В., Безарашвили Л. Г. В кн.: Острая ишемия органов и меры борьбы с постишемическими расстройствами, «Медицина», М., 1973, 185—186.
11. Эристави К. Д., Иоселиани Г. Д., Хучуа А. В. Авт. свид. № 369908, БИ, II, 1973, 13.
12. Ames A., Wright R. L., Kowada M., Thurston I. M., Majno G. Amer. J. Pathol., 52, 2, 437—453, 1968.
13. Chiang J., Kowada M., Ames A., Wright R. L., Majno G. Amer. J. Pathol., 52, 2, 455—465, 1968.
14. Hardaway R. M. Ann. Surg., 155, 3, 325—338, 1962.
15. Hardaway R. M., Drake D. C. Ann. Surg., 151, 1, 39—47, 1963.
16. Hardaway R. M. Amer. J. Surg., 110, 3, 298—301, 1965.
17. Hossmann K. A., Hossmann V. Stroke, 8, 2, 249—254, 1977.
18. Olsson Y., Hossmann K. A. Acta Neuropathol., 17, 68—79, 1971.

პოსტრანემაციურ პერიოდში ჰემოკოაგულაციურ დარღვევათა მნიშვნელობა თავის ტვინის დაზიანების კათოგენეზში

ა. ხუაშა

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

რეზიუმე

პოსტრანემაციურ პერიოდში თავის ტვინის პათოლოგიური ცვლილებების განვითარებაში დიდი მნიშვნელობა აქვს თრომბო-ჰემორაგიულ გართულებებს, რომლებიც უფრო მეტად იჩენს თავს ჰიპოთალამუსსა და მოგრობ ტვინში, ვიდრე დიდი ჰემოსფეროების ქერქში, ჰიპოკამუსსა და ნაახემში. ცენტრალური ნერვული სისტემის ნერვული უჯრედების დაზიანე-

ბა განპირობებულია იმ ჰემორეოლოგიური დარღვევებითაც, რომლებიც, ჰემოკოაგულაციური დარღვევების მსგავსად, თავის ტვინის კაუდალურ ნაწილებში ლოკალიზდება. ჰეპარინი ეფექტურად მოქმედებს როგორც თრომბო-ჰემორაგიული, ასევე ჰემორეოლოგიური გართულებების თავიდან ასაცილებლად და ამ გართულებების სამკურნალოდაც.

THE ROLE OF HEMOCOAGULATION DISTURBANCES IN THE PATHOGENESIS OF BRAIN DAMAGE IN POSTRESUSCITATION PERIOD

A. V. KHUCHUA

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

S u m m a r y

In pathologic changes of brain in postresuscitation period the disseminated intravascular blood coagulation and hemorrhages which are more pronounced in the hypothalamic structures than in the cerebral cortex, hippocampus and cerebellum are of great significance. Damage of nerve cells of the central nervous system in postre-

suscitation period results also from hemorheologic disturbances which, like the hemocoagulation disturbances, are localized mainly in the caudal parts of the brain. Heparin is effective in the prevention and treatment of thrombohemorrhagic and hemorheologic complications.



УДК 577.153.35

БИОХИМИЯ

ЭФФЕКТ НЕЙРОТРАНСМИТТЕРОВ НА ХОЛИНЭРГИЧЕСКИЕ И АДРЕНЭРГИЧЕСКИЕ СИНАПСОСОМЫ

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

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

Поступила в редакцию 04.05.1981

Установлена специфичность эффекта нейротрансмиттеров на Na⁺, K⁺-АТФазу, локализованную в адренэргических и холинэргических синапсосомах. В частности, при определенных концентрациях ацетилхолин ингибирует Na⁺, K⁺-АТФазу холинэргических синапсосом, тогда как 5-гидрокситриптамин и норадреналин не влияют на его активность; во фракции адренэргических синапсосом обнаружен обратный эффект: наблюдается чувствительность Na⁺, K⁺-АТФазы к 5-гидрокситриптамину и норадреналину, тогда как ацетилхолин не действует на эту фракцию.

На основе ранее проведенных исследований [2, 5] по изучению влияния нейротрансмиттеров (НТ) на Na⁺, K⁺-АТФазную систему нами было высказано предположение о возможной специфической связи эффекта с механизмом химической передачи. Кроме того, экспериментально было показано [1], что Na⁺, K⁺-АТФаза синаптических мембран, полученных из различных участков головного мозга крыс, обладает различной чувствительностью к НТ, что может послужить доводом

в пользу функциональной значимости эффекта.

Данная работа посвящена изучению влияния НТ (ацетилхолина (АХ), норадреналина (НА), 5-гидрокситриптамина (5-ГТ) и дофамина) на Na⁺, K⁺-АТФазную активность адренэргических и холинэргических синапсосом, полученных в виде отдельных гомогенных фракций. Это дает возможность выяснить вопрос о специфичности эффекта НТ — в зависимости от типа НТ, участвующих в химической передаче.

МЕТОДИКА

При разработке метода получения адренэргических и холинэргических синапсосом использовали рекомендации Макговерна [7]. После двукратной промывки ядерной фракции в 0,32 М сахарозе осадок суспендировали в 16%-ном фиколле, наслаивали сверху 7,5%-ный фиколл и центрифугировали при 80 000 г/120 мин. После промывки осадок между 16—17,5%-ными слоями ресуспендировали в 11,5%-ном фиколле и наносили на градиент: 18, 11,5 и 6%-ного фиколла;

центрифугировали при 80 000 г/120 мин. После центрифугирования получали два слоя между 18—11,5% и 11,5—6% растворами фиколла. Первая фракция соответствовала холинэргическим синапсосомам, вторая — адренэргическим. Слои снимались осторожно, промывались дважды в 4-кратном объеме 0,32 М сахарозы и центрифугировались при 17 000 г/20 мин.

Чистоту фракции проверяли по количественному распределению в них биогенных аминов методом дансили-

рования [4]*. Содержание НА в адренэргических синапсах превышало его содержание в холинэргических синапсах приблизительно в три раза, что совпадает с литературными данными и служит доказательством гомогенности фракции [7].

Полученные фракции хранили при температуре -20° . АТФазную активность определяли по методике, описан-

ной ранее [6]. Экспериментальные данные представлены в процентах (контрольная активность принята за 100%) и обработаны статистически. Для расчетов использовались законы распределения средней ошибки для малых выборок. Достоверность различия определяли с использованием t -распределения Стьюдента.

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

На рис. 1 представлено влияние НА на Na^+ , K^+ -АТФазную активность адренэргических (кривая 1) и холинэргических (кривая 2) синапсом. НА в широкой области концентраций (0,01—1 мМ) достоверно ($P \leq 0,02$) ингибирует Na^+ , K^+ -АТФазу адренэ-

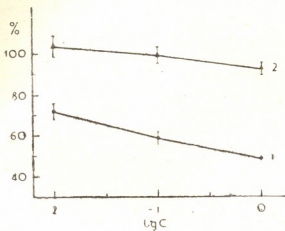


Рис. 1. Зависимость Na^+ , K^+ -АТФазной активности от НА: 1—адренэргические, 2—холинэргические синапсомы

гических синапсом, однако в холинэргических синаптических мембранах достоверный эффект не наблюдается. Оаубаиннечувствительная часть Na^+ , K^+ -АТФазной системы в обоих случаях не чувствительна к воздействию НТ. В некоторых случаях НА проявляет активационный эффект в адренэргических синапсах. Думается, что такой двойкий эффект НА связан с различием в полученных мембранных препаратах.

При действии АХ наблюдаются противоположные НА эффекты. АХ (0,01—2 мМ) достоверно ингибирует Na^+ ,

K^+ -АТФазу в холинэргических синапсах (рис. 2, кривая 2), не меняя Mg^{++} -АТФазную активность. Адренэргическая же система (кривая 1) оказалась нечувствительной в отношении данного нейротрансмиттера.

В случае 5-ГТ во фракции адренэргических синапсом (рис. 3, кривая 1) наблюдается двухфазный эффект. При концентрации от 0,01 мМ до 0,5 мМ 5-ГТ активирует Na^+ , K^+ -АТФазу. Дальнейшее увеличение концентрации снижает активность до первоначального уровня. Во фракции холинэргических синапсом, в тех же пределах концентраций, обнаружить достоверный эффект 5-ГТ на Na^+ , K^+ -АТФазу не удалось (кривая 2). При концентрации выше 0,5 мМ наблюдается ингибция.

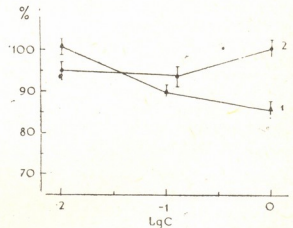


Рис. 2. Зависимость Na^+ , K^+ -АТФазной активности от АХ: 1—адренэргические, 2—холинэргические синапсомы

На рис. 4 показан эффект дофамина на Na^+ , K^+ -АТФазу адренэргических и холинэргических синапсом. В обеих фракциях наблюдается ингибирование. Однако глубина эффекта различна. Более чувствительны к ингибиционному эффекту холинэргиче-

* Авторы приносят благодарность сотрудникам лаборатории нейрохимии Г. Иорданияшвили, А. Чилингарову и М. Николаишвили за техническую помощь при определении содержания НТ во фракциях

ские синапсомы. При концентрации $0,1 \text{ мМ Na}^+$, K^+ -АТФазная активность адренэргических синапсомом не изменяется достоверно, тогда как в холинэргических синапсомомах ингибиционный эффект Na^+ , K^+ -АТФазы составляет 67% . Mg^{++} -АТФаза во всех случаях остается неизменной.

эффект должен приобрести абсолютную специфичность. Метод получения адренэргических и холинэргических синапсов в виде отдельных фракций представил эту возможность. Как показали эксперименты, Na^+ , K^+ -АТФаза адренэргических и холинэргических синапсомом (имеющих морфоло-

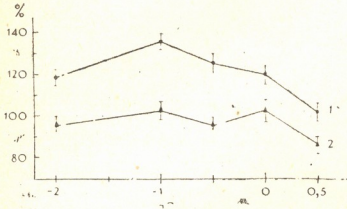


Рис. 3. Зависимость Na^+ , K^+ -АТФазной активности от 5-ГТ: 1—адренэргические, 2—холинэргические синапсомы

Исходя из вышеприведенных экспериментальных данных, можно судить о специфическом характере влияния нейротрансмиттеров на Na^+ , K^+ -АТФазную систему. Следует отметить, что этот вопрос нами изучался и ранее [6], однако полученные результаты не могли служить полным доказательством. Препятствием на пути разрешения этого вопроса, главным образом, являлось то, что: 1) фракции, используемые для изучения эффектов нейротрансмиттеров, обычно гетерогенны (они представлены мембранными фрагментами синапсов из самых различных в функциональном отношении участков мозга, поэтому в итоге получается наложение различных по характеру и глубине действия эффектов); 2) синаптические мембраны характеризуются содержанием различных типов синапсов, специфических для отдельных НТ. Эффект НТ на Na^+ , K^+ -АТФазу из различных участков головного мозга крыс в определенной степени снисало первое препятствие. Na^+ , K^+ -АТФаза синаптических мембран из различных участков мозга должна обладать различной чувствительностью к НТ, поскольку распределение функционально различных синапсов по этим участкам неравномерно. Эксперименты подтвердили предполагаемое: суммарная картина эффекта НТ в каждом из участков имела различный характер [1].

гическое и функциональное различие) проявляет строгую специфичность в отношении НТ.

Говорить о функциональном значении специфического эффекта НА только в отношении Na^+ , K^+ -АТФазы адренэргических синапсов, а АХ — холинэргических синапсов имеет смысл только в случае абсолютной чистоты получаемых фракций, что учитыва-

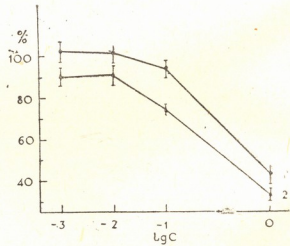


Рис. 4. Зависимость Na^+ , K^+ -АТФазной активности от дофамина: 1—адренэргические, 2—холинэргические синапсомы

лось в экспериментах. Таким образом, можно утверждать, что эффект НТ на Na^+ , K^+ -АТФазную систему имеет специфический характер, в зависимости от типа синаптических образований (адренэргические или холинэргические), с которыми связан механизм химической передачи.

Анализируя зависимость Na^+ , K^+ -АТФазной системы от нейротрансмиттеров, можно заключить, что данный эффект имеет функциональное значе-

ние, что выражается в регуляции активного транспорта в нервной системе.

ЛИТЕРАТУРА

1. Джапаридзе М. З., Абулашвили И. Г., Кометиани З. П. Изв. АН ГССР, сер. биол., 7, 5, 425—430, 1981.

2. Кометиани З. П., Джариашвили Т. Я., Цакадзе Л. Г. Биохимия, 40, 1039—1046, 1975.

3. Кометиани З. П., Джариашвили Т. Я., Цакадзе Л. Г., Микеладзе Д. Г. Изв. АН ГССР, сер. биол., 3, 5, 444—450, 1977.

4. Чилингаров А. О., Собчинская Н. М. Лаб. дело, 6, 333—335, 1980.

5. Kometiani Z. P. Membrane transport processes, II, 359—370, 1978.

6. Kometiani P., Kometiani Z. P., Mikeladze D. Progress in Neurobiology, 11, 223—247, 1978.

7. McGovern S., Maguire M. E., Gurd R. S. FEBS Letters, 31,

ნეიროტრანსმიტერების ეფექტი ადრენერგულ და ქოლინერგულ სინაპტოსომებზე

ა. ჯაფარიძე, თ. ჯარიაშვილი, ლ. წაკაძე, ზ. კომეთიანი

საქართველოს სსრ მეცნიერებათა აკადემიის ფიზიოლოგიის ინსტიტუტი, თბილისი

რეზიუმე

დადგენილ იქნა ნეიროტრანსმიტერების მოქმედების სპეციფიკურობა ქოლინერგულ და ადრენერგულ სინაპტოსომებში ლოკალიზებული Na^+ , K^+ -ატფაზის მიმართ. კერძოდ, განსაზღვრულ კონცენტრაციებში აცეტილქოლინი ინჰიბირებს ქოლინერგული სინაპტოსომების Na^+ , K^+ -ატფაზას, ხოლო 5-ჰიდროქსიტრიფტა-

მინი და ნორადრენალინი მის აქტივობაზე გავლენას არ ახდენენ. ადრენერგულ სინაპტოსომურ ფრაქციაში ნახულ იქნა 5-ჰიდროქსიტრიფტამინისა და ნორადრენალინის ეფექტი; აცეტილქოლინი ამ ფრაქციაში Na^+ , K^+ -ატფაზურ აქტივობას არ სცვლის.

EFFECT OF NEUROTRANSMITTERS ON ADRENERGIC AND CHOLINERGIC SYNAPTOSOMES

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

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

Summary

The specificity of neurotransmitter effect on Na^+ , K^+ -ATPase localized in adrenergic and cholinergic synaptosomes is established. In particular, at definite concentrations acetylcholine (ACh) inhibits Na^+ , K^+ -ATPase of cholinergic synap-

tosomes, while 5-hydroxytryptamine (5-HT) and noradrenaline (NA) do not affect its activity. 5-HT and NA appeared to have an effect in the fractions of adrenergic synaptosomes, while ACh had not.



УДК 577.153.35

БИОХИМИЯ

О ПУТЯХ ДЕЙСТВИЯ БИОГЕННЫХ АМИНОВ НА Mg^{2+} , Ca^{2+} -АТФазу СИНАПТИЧЕСКИХ МЕМБРАН

Н. В. Козаева, Д. Г. Микеладзе

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

Поступила в редакцию 03.06.1981

Изучено влияние биогенных аминов на Mg^{2+} , Ca^{2+} -АТФазу синаптических мембран коры мозга белых крыс. Показано, что эффекты этих соединений зависят от концентрации субстрата — АТФ. Дофамин и серотонин ингибируют энзим при высокой концентрации АТФ (3 мМ) и активируют при низкой (0,5 мМ). Норадреналин не обладает активирующим действием, но с понижением концентрации АТФ степень ингибирования уменьшается. Действие этих соединений не опосредовано аденилатциклазной системой, так как цАМФ не влияет на активность энзима. Фентоламин и пропранолол не снимают эффект норадреналина. Влияние биогенных аминов на активность Mg^{2+} , Ca^{2+} -АТФазы сохраняется и после солиubilизации энзима.

В настоящее время установлено, что многие биологически активные соединения, в том числе и биогенные амины, свой эффект на метаболическую активность клетки осуществляют посредством циклических нуклеотидов и ионов кальция [1, 13]. Внутриклеточная концентрация ионов Са в покое в нейронах не превышает 10^{-7} М, а после возбуждения концентрация их возрастает до 10^{-6} — 10^{-5} М [22]. В транспорте ионов Са в нервной клетке, в процессах их захвата и освобождения принимают участие митохондрии, эндоплазматическая сеть, а также Са-связывающие белки цитозоля [12, 23]. Выброс ионов Са через плазматическую мембрану осуществляется специальной системой Na/Са обмена и транспортной Mg^{2+} , Ca^{2+} -АТФазой. При этом есть указания, что при высоких концентрациях выброс Ca^{2+} осуществляется механизмом Na/Са обмена, а при низких — Mg^{2+} , Ca^{2+} -АТФазой [8]. Именно в пределах низких концентраций ионы Са осуществляют контроль над рядом энзиматических систем, в том числе аденилатциклазы.

Поэтому не исключено, что Mg^{2+} , Ca^{2+} -АТФазе плазматической мембраны принадлежит ведущая роль в регуляции внутриклеточной концентрации ионизированного Са. Поскольку синаптическая передача сопровождается изменением работы транспортных АТФаз и перераспределением ионов, вопросы, связанные с регуляцией катионных АТФаз, имеют первостепенное значение для изучения процессов, лежащих в основе активности нервной системы. В настоящее время интенсивно изучается характер действия нейропередатчиков на такой важный для функции нервной ткани энзим, каким является Na^+ , K^+ -АТФаза [2, 3, 4, 5, 14, 16, 20, 21, 25]. Хотя в синаптических мембранах мозга белых крыс обнаруживается высокая Mg^{2+} , Ca^{2+} -АТФазная активность [11], как действуют нейропередатчики на этот энзим, остается все еще невыясненным. Целью настоящего исследования было выяснение участия в регуляции активности Mg^{2+} , Ca^{2+} -АТФазы биогенных аминов.

МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ

В опытах использовалась кора мозга белых растущих крыс. Синаптические мембраны получали по Де Роберту с соавт. [7]. Отбирали слой между 0,9—1,0 М сахарозой, богатый элементами синаптической щели.

Mg^{2+} , Ca^{2+} -АТФазную активность определяли по образованию неорганического фосфата методом Дункана [11]. Инкубационная среда содержала в конечных концентрациях: 40—50 мкг белка, 3 мМ $MgCl_2$, 0,5 мМ ЭГТА, 100 мМ KCl, 50 мМ трис-HCl буфер, pH—7,4. В соответствующих пробах — 0,48 мМ $CaCl_2$, различные концентрации АТФ и биогенных аминов, по 10 мкМ цАМФ, фентоламина и пропранолола. Реакцию начинали внесением белка. Инкубацию проводили 10—20 мин при 37°C. Останавливали реакцию внесением реагента, со-

державшего равные объемы 1%-ного аммония молибдата в 1,8 н H_2SO_4 и 1%-ного луброла WX. Окраску calorиметрировали спустя 30 мин при 390 н.м.

Для солюбилизации был применен луброл PX, белок: детергент в соотношении 1:2. Инкубацию проводили при 0° 15 мин с последующим центрифугированием 150 000 г в течение 30 мин, супернатант использовали сразу же после получения.

Белок определяли по Лоури с соавт. [17].

В опытах брали: дофамин—Ferak (ГДР), серотонин, цАМФ—Reanal (Венгрия), ДЛ-пропранолол, луброл WX, луброл PX—Sigma (США), L-норадреналин и трис—Koch-Light (Англия), фентоламин—отечественный, перекристаллизованный.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

При решении вопроса о наличии связи действия биогенных аминов на активность Mg^{2+} , Ca^{2+} -АТФазы мы исходили из того, что в эффектах нейротрансмиттеров на энзимы синаптических мембран решающую роль может играть АТФ. Известно, что этот нуклеотид присутствует в везикулах как холинэргических, так и адренэргических нейронов и транспортируется в синаптическую щель вместе с нейротрансмитчиками [10, 15]. Кроме того, нужно принять во внимание тот факт, что АТФ сам может участвовать как нейротрансмитчик в пуринергических нейронах [6, 19].

Предпринятое нами изучение АТФазной активности в зависимости от концентрации субстрата АТФ показало, что Ca^{2+} -стимулируемая часть фермента, в отличие от базальной, Mg^{2+} -АТФазы, не подчиняется кинетике Михаэлиса и имеет колоколообразную форму в координатах V от S_0 (рис. 1).

Такая зависимость скорости реакции от концентрации АТФ может указывать либо на ингибирование субстратом, либо на аллостерическое взаимодействие субединиц этого фермента и нескольких АТФ связывающих центров, как это было показано для

Mg^{2+} , Ca^{2+} -АТФазы саркоплазматического ретикулума [23].

При изучении влияния дофамина (ДА) на Mg^{2+} , Ca^{2+} -АТФазу синаптических мембран выяснилось, что при низких концентрациях АТФ (0,5 мМ)

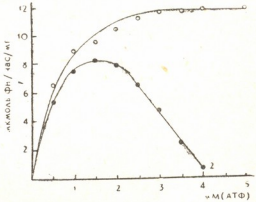


Рис. 1. Кривая насыщения субстратом (АТФ) для Mg^{2+} и Ca^{2+} -АТФазной активностей синаптических мембран: 1— Mg^{2+} -АТФазная активность; 2— Ca^{2+} -АТФазная активность (разница между Ca^{2+} -стимулируемой и базальной Mg^{2+} -АТФазной активностью)

этот амин активирует АТФазу, с повышением концентрации АТФ (1,5 мМ) активирующий эффект снижается, а при высокой концентрации (3,0 мМ) — ингибирует фермент. Значительно меньшая концентрация амина доста-

точна для активации (10 μM), чем для ингибирования Mg^{2+} , Ca^{2+} -АТФазы (рис. 2).

Такая же зависимость эффекта амина от концентрации АТФ наблюдается и при внесении в инкубационную среду серотонина (5-ГТ). Различие заключается в том, что при 1,5 mM концентрации АТФ уже происходит ингибирование фермента, но для этого требуется более высокая концентрация амина, тогда как для активирующего эффекта при 0,5 mM АТФ достаточна столь малая доза 5-ГТ, как 0,1 μM (рис. 3).

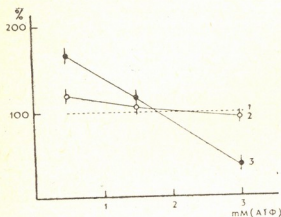


Рис. 2. Изменение активности Mg^{2+} , Ca^{2+} -АТФазы синаптических мембран в присутствии 10 μM (2) и 500 μM (3) дофамина; 1—контроль (представлены средние данные 8 опытов)

В случае с норадреналином (НА) активирующий эффект отсутствует, а ингибирующий проявляется при концентрации амина 10 μM и возрастает с повышением концентрации (рис. 4).

Следует отметить, что ингибирование энзима НА уменьшается с понижением концентрации АТФ (рис. 5А).

Известно, что НА осуществляет свои эффекты на активность клетки через α - или β -адренорецепторы. В коре мозга крысы аденилатциклаза (АЦ) активируется НА через оба рецептора [9]. Вместе с тем данные об участии этих рецепторов в эффектах НА на другой транспортный энзим — Na^+ , K^+ -АТФазу противоречивы [16, 18, 21, 24], и вопрос этот остается невыясненным.

В условиях наших опытов действие аминов не могло быть опосредовано активацией АЦ, так как цАМФ не влияет на активность Mg^{2+} , Ca^{2+} -АТФазы при всех условиях опыта. Для выяснения взаимоотношений изучаемого энзима с α - и β -адренорецепторами

были использованы α -адреноблокатор фентоламин и β -адреноблокатор пропранолол. Эти соединения не снимали ингибирующего влияния НА, что говорит о том, что действие амина не осуществляется через α - или β -адренорецептор.

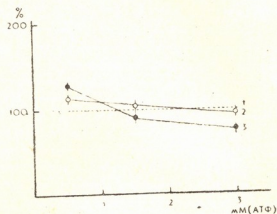


Рис. 3. Изменение активности Mg^{2+} , Ca^{2+} -АТФазы синаптических мембран в присутствии 0,1 μM (2) и 10 μM (3) серотонина; 1—контроль (представлены средние данные 8 опытов)

Существует также предположение о неспецифическом воздействии аминов на Na^+ , K^+ -АТФазу через липидную организацию мембраны [18]. Для выяснения значения этого фактора в эффектах используемых соединений на Mg^{2+} , Ca^{2+} -АТФазу фермент был солибилизован из синаптических мембран с помощью неионного детергента луброла РХ (см. методику).

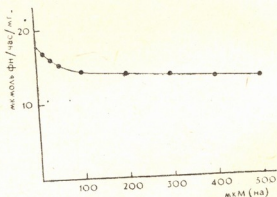


Рис. 4. Изменение Mg^{2+} , Ca^{2+} -АТФазной активности в присутствии разных концентраций норадреналина

Влияние ДА и 5-ГТ на солибилизованный фермент было аналогично действию на мембранный энзим. В случае с НА значительный активирующий эффект наблюдался при концентрации АТФ — 0,5 mM (рис. 5Б).

Появление активирующего действия НА на солубилизованный энзим говорит о том, что здесь элюминируется какое-то регуляторное звено, представленное в мембранах. Возможно, что сам энзим модифицируется под влиянием луброла РХ. Поскольку в случае растворимой формы АТФазы действие аминов не может осуществляться через изменения текучести мембраны, это предположение в наших опытах исключается.

направлены и не могут быть объяснены этим фактором.

Таким образом, разнонаправленные, концентрационные эффекты биогенных аминов на транспортные АТФазы имеют закономерный характер и не обусловлены какими-либо неспецифическими взаимодействиями с фосфолипидами мембран или ионами двухвалентных металлов. Следует думать, что влияние этих соединений на Mg^{2+} , Ca^{2+} -АТФазу синаптических мембран

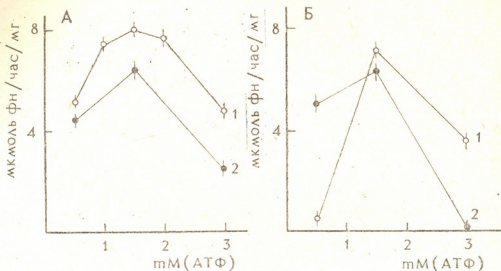


Рис. 5. Действие норадrenalина на мембранный (А) и солубилизованный (Б) препараты Mg^{2+} , Ca^{2+} -АТФазы: 1—контроль, 2—в присутствии 500 μM норадrenalина (представлены средние данные 6 опытов)

Известно также, что катехоламины (КА) способны хелатировать ионы Са. Этим, в частности, некоторые авторы объясняют активирующий эффект КА на Na^+ , K^+ -АТФазу [22]. В нашем случае эффекты аминов разно-

непосредственное и зависит, с одной стороны, от АТФ-зависимого конформационного состояния энзима, с другой, контролируется регуляторным мембранным фактором, вероятно белком.

ЛИТЕРАТУРА

1. Кометиани П. А. О механизмах действия циклической аденозинмонофосфорной кислоты, «Мецниереба», Тбилиси, 1974.
2. Кометиани З. П., Джарнашвили Т. Я. Изв. АН ГССР, сер. биол., 1, 2, 190—196, 1975.
3. Кометиани З. П., Джарнашвили Т. Я., Микеладзе Д. Г., Цакадзе Л. Г. Изв. АН ГССР, сер. биол., 3, 5, 444—449, 1977.
4. Пикулев А. Т., Щербань А. И. Вopr. мед. химии, 25, 719—723, 1979.
5. Akagawa K., Tsukada Y. J. Neurochem., 32, 269—271, 1979.
6. Burnstock G. Pharmacol. Rev., 24, 509—581, 1972.
7. De Robertis E., Rodriguez de Lores Arnaiz G. Handbook of Neurochem. (Laittha A. ed), Plenum Press, N-Y—London, 1965, 365—392.
8. Di Polo R., Beauge L. Nature, 278, 281—273, 1979.
9. Dismukes R. K., Daly J. W. J. Cyclic Nucl. Research, 2, 321—336, 1976.
10. Dowdall M. J., Boyne A. F., Whittaker V. P. Biochem. J., 140, 1—12, 1974.
11. Duncan C. J. J. Neurochem., 27, 1277—1279, 1976.

12. Erulkar S. D., Fine A. Rev. of Neurosciences (Schneider ed), Raven Press, N-Y, 1979, 179—232.

13. Greengard P. Science, 199, 146—152, 1978.

14. Kometiani P., Kometiani Z., Mikeladze D. Progr. in Neurobiol., 11, 223—247, 1978.

15. Kuroda Y. J. Physiol. (Paris), 74, 463—470, 1978.

16. Logan J. C., O' Donovan D. J. Biochem. Pharmac., 29, 111—112, 1980.

17. Lowry O. H., Rosenbraugh N. J., Farr A. L., Rundell R. S. J. Biol. Chem., 193, 265—275, 1951.

18. Rangaraj N., Kalant H. Canad. J. Physiol. Pharmac., 57, 1098—1107, 1979.

19. Ribeiro J. A. Life Sci., 22, 1373—1380, 1978.

20. Rimon G., Hanski E., Braun S., Levitzki A. Nature, 276, 394—397, 1978.

21. Schalfner A., Kombos M., Seregi A. Biochem. Pharmac., 28, 2307—2312, 1979.

22. Sulakhe P. V., Souis P. J. Progr. Biophys. Mol. Biol., 35, 135—195, 1980.

23. Taylor J. S., Hattian D. J. Biol. Chem., 254, 4402—4407, 1979.

24. Van der Kroegt J. A., Belfroid R. D. M. Biochem. Pharmac., 29, 857—868, 1980.

25. Wu P. H., Phillis J. W. Int. J. Biochem., 12, 353—359, 1980.

სინაფსური მემბრანების Mg^{2+} , Ca^{2+} -ატფაზზე ბიოგენური ამინების მოქმედების გზების შესახებ

ნ. კოზაევა, დ. მიქელაძე

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

რ ე ზ ი უ მ ე

სინაფსურ Mg^{2+} , Ca^{2+} -ატფაზზე ნორადრენალინის, დოპამინისა და სეროტონინის მოქმედების შესწავლამ დაგვანახა, რომ ამ ნივთიერებებს შეუძლიათ ფერმენტის როგორც გააქტივება, ასევე ინჰიბირება. ასეთი მოქმედების ხასიათი დამოკიდებულია ატფ-ის კონცენტრაციაზე. ბიოგენური ამინების მოქმედება Mg^{2+} , Ca^{2+} -ატფაზზე არ არის განპირობებული

ლი ადენილატციკლაზური სისტემით და არ ხორციელდება α - ან β -ადრენორეცეპტორის საშუალებით. ამ ნაერთების მოქმედება თავს იჩენს ფერმენტის სოლუბილიზაციის შემდეგაც. არის მოსაზრება, რომ ბიოგენური ამინები უშუალოდ მოქმედებენ სინაფსური მემბრანების Mg^{2+} , Ca^{2+} -ატფაზზე.

STUDIES ON THE EFFECTS OF BIOGENIC AMINES ON THE SYNAPTIC MEMBRANE Mg^{2+} , Ca^{2+} -ATPase

N. V. KOZAEVA, D. G. MIKELADZE

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

Summary

The study of the influence of noradrenaline, dopamine and hydroxytryptamine on the synaptic membrane Mg^{2+} , Ca^{2+} -ATPase activity shows that these substances can inhibit, as well as activate the enzyme. The character of the effect depends on ATP concentration.

by the adenylate cyclase system and α - and β -adrenergic blockers cannot abolish the effect of noradrenaline. The biogenic amines have an influence on the solubilized form of the enzyme, too.

Direct action of these substances on Mg^{2+} , Ca^{2+} -ATPase activity in synaptic membranes is supposed.

УДК 577.15.047

БИОХИМИЯ

СОДЕРЖАНИЕ СВОБОДНЫХ АМИНОКИСЛОТ ЛИСТЬЕВ ЧАЯ НА ФОНЕ РАЗЛИЧНЫХ ФОРМ АЗОТА ПРИ ВЕГЕТАЦИИ

Г. Д. Цхойдзе, В. П. Цанава, Н. Г. Цанава, Н. Н. Нуцубидзе

*Всесоюзный НИИ чая и субтропических культур МСХ СССР, Анахеули,
Институт биохимии растений АН ГССР, Тбилиси*

Поступила в редакцию 15.10.1981

Исследовано влияние различных форм азота на накопление свободных аминокислот в листьях чайного растения при вегетации. В качестве азотной подкормки применялись аммоний сернистый, нитрат аммония и мочевина. Накопление свободных аминокислот резко меняется в зависимости от источника азотного питания. Под влиянием мочевины и других источников азота содержание аминокислот в листьях чая увеличивается в июле, в августе и сентябре. На фоне азотной подкормки в листьях летнего сбора увеличивается содержание свободных аминокислот, играющих важную роль в формировании аромата и являющихся важными питательными компонентами настоя чая.

Содержание свободных аминокислот в большинстве случаев указывает на обеспеченность растений азотом. Минеральное питание, особенно азотное, резко меняет количественное соотношение свободных аминокислот в органах растений; под его влиянием меняется отчасти азотный обмен. В литературе имеются данные о влиянии различных форм азота на накопление аминокислот в растениях. Исследования проведены на кукурузе, горохе, рисе, пшенице, томате, на многолетних растениях — яблоне, виноградной лозе, чае и др. [4, 5, 12, 13]. Содержание свободных аминокислот коррелирует с обеспеченностью растений азотом, при этом меняются как качественные, так и количественные показатели [1, 2, 6]. Качественное содержание связанных аминокислот под влиянием азотного питания не меняется; изменениям подвержена лишь количественная сторона.

На фоне аммиачного и нитратного питания в растениях усиливается биосинтез амидов и свободных аминокислот. При этом резким изменениям подвергаются те аминокислоты, которые играют в аминокислотном обмене

главную роль — глутаминовая и аспарагиновая кислоты, аланин, глутамин и аспарагин. В растении кукурузы нитратный азот стимулирует накопление дикарбоновых кислот, а соли аммония — аланина, глутамин и аспарагина [7, 9, 11].

Ассимиляция азота мочевины в растении картофеля в начале вегетации осуществляется первичным образованием глутамин, а в конце — через аргинин [3].

Качественный состав свободных аминокислот флешей чая не меняется в зависимости от форм и доз азотного питания, но с увеличением доз усиливается их образование и накопление [10].

При вегетации чая использование азота различных источников происходит с разной интенсивностью. Азот листьев чая августовского и сентябрьского сборов содержит 30% азота удобрения. В сезон сбора чая в материале наблюдается резкое колебание содержания азота [9].

Свободные аминокислоты растений чая, кроме создания общего аминокислотного пула и базиса азотного обмена растений, наряду с полифеноль-



ными соединениями, необходимы при формировании вкуса, аромата и окраски настоя чая. Исходя из вышесказанного, целью данной работы бы-

ло выяснение роли различных азотных удобрений в образовании аминокислот в листьях чая на различных этапах вегетации.

МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Опыты проводились в микрополевых условиях на растении чая сорта «Колхида» 5-летнего возраста. Сульфат аммония, нитрат аммония и мочевины вносились под изолированный куст, на площади 1 м² в пересчете на 30 г азота.

Листья чая собирались на разных этапах вегетации. Опытный материал гомогенизировался и многократно экстрагировался дистиллированной водой. Вытяжка освобождалась от таннинов с помощью специально пригото-

ленного капронового порошка. Очищенные от полифенолов вытяжки пропускались на колонках с катионитом ДАУЭКС-50; аминокислоты элюировались 4N HCl. Элюат выпаривался, а осадок растворялся в буферном растворе с рН 2,2, который применялся для определения свободных аминокислот на аминокислотном анализаторе чешского производства марки Hd 1200E, в некоторых случаях — хроматографией на бумаге [4, 9].

РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

Изучение влияния различных форм азота на состав свободных аминокислот листьев чая показало, что в зависимости от подачи азота резко меняются количественный состав отдельных свободных аминокислот и их общая сумма. Содержание свободных аминокислот в молодых побегах чая меняется на различных фазах вегетации без применения минерального, азотного питания.

В контрольном опыте в сезон сбора чая количество отдельных свободных аминокислот подвергается изменениям без подачи различных форм азота. Основная масса аминокислот чайного куста на разных фазах вегетации представлена почти одинаковым количеством, тогда как некоторые из аминокислот резко меняются количественно. Такие аминокислоты, как лизин, аргинин, глутаминовая кислота, аспарагиновая кислота, γ -аминомасляная кислота в больших количествах образуются в середине или во второй половине вегетации. Особо следует отметить нарастание их количеств в июле-августе, так как чай, собранный в этот период, отличается высоким качеством.

На июль-август приходятся также максимальные показатели суммы свободных аминокислот. Надо отметить, что специфичная для чая аминокислота — теанин — количественных изменений при активной вегетации не претерпевает (табл. 1).

При подаче сернистого аммония общее количество свободных аминокислот, по сравнению с контролем, почти в 2—3 раза увеличивается. Закономерность, наблюдаемая в контрольном опыте, сохраняется и в этом случае: лизин, аргинин, аспарагиновая кислота, глицин, аланин, тирозин, теанин, γ -аминомасляная кислота, фенилаланин и особенно глутаминовая кислота образуются в 2—4 раза больше. Увеличивается во второй половине вегетации и количество пролина, цистина и валина (табл. 2).

Применение мочевины для подкормки чайного куста по образованию свободных аминокислот дает такой же эффект, как и сернистый аммоний. Почти половину содержания свободных аминокислот и в этом случае представляет глутаминовая кислота, количество которой еще больше увеличивается во второй половине вегетации. Своим количеством выделяется также аргинин, который в июле синтезируется вдвое больше, чем в остальные месяцы. В августе максимум накопления дают такие аминокислоты, как теанин, аланин, глицин. Общая закономерность преимущественного образования некоторых ранее названных аминокислот в июле-августе сохраняется и при этом источнике азота — лизин, аргинин, глутаминовая и аспарагиновая кислоты и др. (табл. 3).

Высокий синтетический уровень образования аминокислот, наблюдаемый

Таблица 1

Динамика образования свободных аминокислот в листьях чая без подачи азотной подкормки (контроль: чайный куст 5 лет, сорт „Колхида“, свободные аминокислоты в мг/100 г абс. сух. веса)

Аминокислоты	Дата взятия пробы				
	24.V	9.VI	5.VII	11.VIII	21.IX
Лизин	10,38	12,55	15,50	16,64	10,38
Гистидин	6,54	6,54	6,94	7,39	6,16
Теанин	6,47	7,83	7,80	5,35	5,60
Триптофан	5,17	5,84	4,13	3,33	2,02
Орнитин	0,60	0,71	0,67	0,60	0,70
Аргинин	31,82	40,24	40,24	58,00	35,90
Аспарагиновая кислота	5,19	5,63	7,37	9,99	10,00
Треонин	6,24	2,26	2,40	5,95	2,22
Серин	4,79	5,20	4,10	6,99	5,79
Глутаминовая кислота	98,75	134,40	135,16	140,09	98,75
Пролин	1,81	7,27	5,14	5,20	7,27
Глицин	12,74	11,05	11,22	12,74	4,10
Аланин	10,02	9,44	9,69	12,47	10,02
Цистин	2,24	2,99	3,18	2,55	1,60
Валин	4,27	7,54	4,27	7,54	7,54
Метионин	1,07	1,15	2,85	2,86	0,95
Изолейцин	2,36	2,30	4,31	2,36	6,89
Лейцин	15,45	15,70	9,30	8,63	7,98
Тирозин	12,37	14,11	6,27	5,19	3,53
Фенилаланин	5,94	6,00	6,84	5,94	8,28
γ -аминомасляная кислота	3,14	7,52	9,60	9,71	13,31
Сумма аминокислот	252,36	310,27	298,58	332,52	250,99

Таблица 2

Динамика образования свободных аминокислот в листьях чая на фоне сернокислого аммония (чайный куст 5 лет, сорт „Колхида“, свободные аминокислоты, в мг/100 г абс. сух. веса)

Аминокислоты	Дата взятия пробы				
	24.V	9.VI	5.VII	11.VIII	21.IX
Лизин	17,02	45,60	45,15	29,81	20,33
Гистидин	10,27	9,24	18,63	7,85	9,74
Теанин	15,80	26,43	29,12	25,58	12,60
Триптофан	7,51	8,10	8,34	5,48	4,49
Орнитин	0,72	3,30	3,83	3,80	6,08
Аргинин	44,84	89,71	156,73	107,66	49,86
Аспарагиновая кислота	13,76	20,33	31,42	24,48	34,86
Треонин	11,10	2,58	8,95	7,17	6,26
Серин	11,89	6,39	6,30	11,94	11,87
Глутаминовая кислота	179,68	177,89	317,90	379,90	250,71
Пролин	9,50	9,69	10,90	15,22	4,82
Глицин	15,48	27,84	37,00	26,80	4,53
Аланин	18,24	22,82	31,10	25,77	14,59
Цистин	4,36	7,72	16,14	9,01	2,73
Валин	5,56	16,00	6,48	8,19	10,52
Метионин	2,86	2,06	10,82	3,20	1,14
Изолейцин	2,96	2,58	18,85	5,34	11,54
Лейцин	22,15	18,04	24,59	11,49	9,97
Тирозин	15,44	19,33	27,74	12,15	8,15
Фенилаланин	21,50	27,18	23,56	15,58	14,62
γ -аминомасляная кислота	6,12	26,65	25,25	19,38	22,78
Сумма аминокислот	418,77	581,08	858,80	738,80	502,19



Таблица 3

Динамика образования свободных аминокислот в листьях чая при подаче мочевины (чайный куст 5 лет, сорт „Колхида“, свободные аминокислоты в мг/100 г абс. сух. веса)

Аминокислоты	Дата взятия пробы				
	24.V	9.VI	5.VII	11.VIII	21.IX
Лизин	33,67	33,59	42,78	36,33	27,95
Гистидин	12,05	7,76	20,62	12,94	13,31
Теанин	18,52	21,73	23,81	39,12	25,16
Триптофан	8,74	4,57	9,14	9,77	8,02
Орнитин	0,82	4,29	3,64	7,68	2,73
Аргинин	43,72	89,53	153,23	88,85	80,49
Аспарагиновая кислота	16,63	18,80	36,80	42,51	24,40
Треонин	14,14	3,21	6,35	10,42	5,10
Серин	8,40	8,79	9,24	13,19	8,48
Глутаминовая кислота	153,05	176,73	349,88	396,72	255,90
Пролин	4,31	8,17	15,83	15,44	10,60
Глицин	21,25	21,77	26,24	34,91	11,10
Аланин	17,75	18,93	34,59	42,08	25,74
Цистин	4,58	5,10	13,42	8,17	4,63
Валин	5,47	9,48	6,23	14,63	16,00
Метионин	3,09	2,75	10,14	8,32	1,43
Изолейцин	5,17	7,49	12,79	7,10	13,46
Лейцин	23,54	20,55	12,01	22,21	8,87
Тирозин	18,42	20,50	14,68	16,81	12,03
Фенилаланин	10,09	29,70	12,78	16,89	23,29
γ-аминомасляная кислота	9,71	15,85	17,38	13,68	21,56
Сумма аминокислот	428,65	492,69	820,68	851,20	624,59

Таблица 4

Динамика образования свободных аминокислот в листьях чая при подаче нитрата аммония (чайный куст 5 лет, сорт «Колхида», свободные аминокислоты в мг/100 г, абс. сух. веса)

Аминокислоты	Дата взятия проб				
	24.V	9.VI	5.VII	11.VIII	21.IX
Лизин	33,42	44,00	51,70	26,70	18,27
Гистидин	12,19	9,85	13,87	12,60	6,54
Теанин	16,29	21,87	27,65	23,98	12,62
Триптофан	8,69	8,50	9,79	9,25	3,65
Орнитин	3,56	3,56	4,98	2,59	2,38
Аргинин	64,61	87,64	164,66	169,46	115,82
Аспарагиновая кислота	22,83	36,87	21,35	28,61	11,82
Треонин	13,40	7,39	4,06	7,34	5,53
Серин	11,16	13,56	6,16	7,50	7,58
Глутаминовая кислота	145,91	206,23	295,95	326,71	343,30
Пролин	6,65	12,80	15,75	14,38	12,67
Глицин	22,61	24,40	29,73	20,58	7,49
Аланин	27,80	39,22	22,82	27,19	18,94
Цистин	6,95	8,75	13,99	8,44	4,61
Валин	7,35	11,01	6,86	10,75	11,06
Метионин	4,13	12,38	10,04	3,65	2,26
Изолейцин	7,10	6,03	7,10	5,09	9,87
Лейцин	24,38	21,23	16,40	18,87	9,67
Тирозин	23,35	27,57	19,81	13,58	11,71
Фенилаланин	21,75	31,81	24,08	17,53	10,74
γ-аминомасляная кислота	9,76	25,33	21,08	20,08	27,38
Сумма аминокислот	509,89	665,00	839,81	775,28	667,91

на фоне подкормки растений нитратом аммония, сохраняется весь активный вегетационный период. Из отдельных аминокислот выделяются глутаминовая кислота и аргинин, сумма которых составляет больше половины всех аминокислот, взятых вместе. Самое интенсивное образование названных аминокислот происходит в июле, августе и отчасти в сентябре. Видимо, при большей подаче азота, он аккумулируется в тех аминокислотах, которые или активно участвуют в процессе ассимиляции азота, как например глутаминовая кислота в первичном аминировании, или содержат в своей молекуле несколько амино- и имино-групп, как аргинин. Надо отметить, что в случае чайного куста подтверждается замеченная ранее [4]

одним из авторов данной работы закономерность, присущая многолетним растениям, заключающаяся в образовании ими при азотном питании преимущественно свободных аминокислот, а не амидов, как это происходит в случае однолетних растений (табл. 4).

Таким образом, в растении чая при подаче различных форм азота синтез свободных аминокислот увеличивается в течение всей вегетации, особенно в июле-августе. В этот период проводится сбор листьев чая, из которых готовят лучшие образцы готовой продукции. Надо полагать, что в формировании аромата и вкуса готового чая определенную роль играют и аминокислоты — глутаминовая кислота, аргинин, теанин, лизин и др.

ლიტერატურა

<p>1. Гамзикова Л. М., Гамзиков Г. П. Сб. науч. работ Сибирского НИИСХ, 10, 1965, 95—99.</p> <p>2. Кретонович В. Л. Обмен азота в растениях, «Наука», М., 1972.</p> <p>3. Мокроносов А. Т., Ильиных Г. Т., Шуколюкова Н. И. Физиол. раст., 15, 5, 798—800, 1966.</p> <p>4. Нуцубидзе Н. Н. Ассимиляция азота виноградной лозой, «Мецниереба», Тбилиси, 1974.</p> <p>5. Палфи Г. Физиол. раст., 12, 3, 398—404, 1965.</p> <p>6. Плешков Б. П. Известия ТСХА, 6, 97—101, 1961.</p>	<p>7. Удовенко Г. В. Физиол. раст., 12, 5, 932—935, 1965.</p> <p>8. Ценова Е. Физиол. раст., 1, 3, 75—83, 1975.</p> <p>9. Цанава В. П., Цанава Н. Г. Субтропические культуры, 2, 79—84, 1971.</p> <p>10. Харебава Г. И., Цанава В. П., Гаприндашвили А. Х. Агрохимия, 4, 26—31, 1973.</p> <p>11. Nouacki E., Weznikas T. Pamietnik Pulaw., 64, 5—23, 1975.</p> <p>12. Heff J. E., Wilcox G. E., Jones C. M. J. Amer. Soc. Hortic. Sci., 99, 1, 27—30, 1974.</p> <p>13. Tromp J., Ovaas J. C. Physiol. Plant., 45, 1, 23—28, 1979.</p>
--	---

ჩაის ფოთლებში თავისუფალ ამინომჟავათა შემცველობა ვეგეტაციის დროს, აზოტის სხვადასხვა ფორმების ფონზე

ბ. ცხომიძე, ვ. ცანავა, ნ. ცანავა, ნ. ნუცუბიძე

ჩაისა და სუბტროპიკულ კულტურათა საკავშირო სამეცნიერო-კვლევითი ინსტიტუტი, ანსეულო

საქართველოს სსრ მეცნიერებათა აკადემიის მეცნარეთა ბიოქიმიის ინსტიტუტი, თბილისი

რეზიუმე

გამოკვლევულ იქნა, თუ აზოტის სხვადასხვა ფორმები რა გავლენას ახდენს „კოლხიდას“ ჭიშის ჩაის 5-წლიანი მცე-

ნარის ფოთლებში თავისუფალ ამინომჟავათა დაგროვებაზე ვეგეტაციის პროცესში. მეცნარის გამოსაკვებად გამოყენე-

ბულ იქნა გოგირდმკვავა ამონიუმში, ამონიუმის ნიტრატი და შარდოვანა. გამოიკვამ, რომ თავისუფალ ამინომკვავათა შემცველობა მკვეთრად იცვლება იმის მიხედვით, თუ როგორი აზოტით ხდება მცენარის გამოკვება. შარდოვანასა და აზოტის შემცველ სხვა ნაერთთა გავლენით ჩაის ფოთლებში ამინომკვავების შემცვე-

ლობა მკვეთრად მატულობს ივლისში, აგვისტოსა და სექტემბერში.

აზოტით გამოკვების ფონზე ჩაის ფოთლის ზაფხულის მოსავლის ამინომკვავურ შემადგენლობაში მატულობს ის ნაერთები, რომლებიც განაპირობებენ, სხვა ფაქტორებთან ერთად, ჩაის ნაყენის სურნელებასა და კვებითი ღირებულებას.

EFFECT OF DIFFERENT NITROGEN FORMS ON FREE AMINO ACID CONTENT OF TEA LEAVES DURING VEGETATION

G. D. TSKHOIDZE, V. P. TSANAVA, N. G. TSANAVA, N. N. NUTSUBIDZE

All-Union Scientific Research Institute of Tea and Subtropical Cultures, Anasuli Institute of Plant Biochemistry, Georgian Academy of Sciences, Tbilisi, USSR

S u m m a r y

The influence of different nitrogen forms on the accumulation of free amino acids in 5-year old tea leaves variety «Kolkhida» during vegetation has been investigated. Ammonium sulphide, ammonium nitrate and urea have been used as nitrogen feeding. The accumulation of free amino acids significantly changes depending on various sources of nitrogen feeding. Un-

der the influence of urea and other nitrogen sources, the amino acid content in tea leaves increases in July, August and September. Against the background of nitrogen feeding, the free amino acid content in tea leaves during summer tea picking increases; these amino acids significantly increase the aroma and serve as the main nutrient source of tea leaves.



УДК 547.963.3

БИОФИЗИКА

**МИКРОКАЛОРИМЕТРИЧЕСКОЕ ИССЛЕДОВАНИЕ
РЕКОНСТРУИРОВАННОГО КОМПЛЕКСА ГИСТОН Н1-ДНК**

**И. Ш. Мегрелишвили, Л. М. Шеварнадзе, В. В. Герасимов,
М. М. Заалишвили**

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

Поступила в редакцию 23.07.1981

Микрокалориметрическим методом исследована тепловая денатурация комплекса гистона Н1 с ДНК тимуса теленка в различных растворителях. В 1 мМ NaCl денатурация происходит в две стадии с температурами плавления 57 и 85°C, что несколько отличается от данных, получаемых по УФ-поглощению. Исследование выявило кооперативность связывания гистона Н1 на ДНК; при этом гистон частично расплетает ДНК, не меняя, однако, параллельности укладки нуклеотидов. Денатурация комплекса в процессе нагревания приводит к увеличению его теплоемкости по сравнению с нативной.

Интерес к изучению структуры и свойств комплексов ДНК с гистонами вызван той большой ролью, которую играют эти комплексы в процессе жизнедеятельности эукариот. Хотя изменения, происходящие в хроматине и ответственные за специфичность его матричной активности, в деталях не известны, представляется вероятным, что в них участвуют хромосомные белки и что различные участки ДНК могут при этом как-то «демакироваться» и становиться доступными для транскрипции [5, 15].

Одним из методов изучения нуклео-

протеидных комплексов является исследование тепловой денатурации [6, 8, 13, 23], так как, связываясь с ДНК, гистоны вызывают локальную стабилизацию структуры ДНК и степень этой стабилизации оценивается непосредственно из кривых плавления. В настоящей работе тепловая денатурация комплексов гистон Н1-ДНК исследовалась методом сканирующей микрокалориметрии. Полученные данные в рамках теории перехода спираль-клубок [2, 10, 13] дают основания для некоторых предположений о структуре и свойствах комплекса.

МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ

В экспериментах использовались коммерческий препарат ДНК из тимуса теленка («Serva», Feinbiochemica), переосажденный в этиловом спирте, и гистоны из тимуса теленка (Sigma Chemical Co). Для получения комплексов ДНК и гистон смешивались в 2 М NaCl; полученную смесь подвергали градиентному диализу против растворов NaCl с постепенно уменьшающейся ионной силой. Конечная стадия диализа проводилась против

1 мМ NaCl в течение 18 ч, затем раствор центрифугировали 45 мин при 2000 об/мин. Весовое соотношение гистон:ДНК определялось после измерения концентраций ДНК и гистона в растворе. Концентрация ДНК определялась спектрофотометрическим методом [22], концентрация гистона — по Лоури [14].

Калориметрические измерения проводились на дифференциальном адiabатическом микрокалориметре ДАСМ-

1 м [19], спектрофотометрические — регистрировали на Specord UV-Vis (Carl Zeiss, Jena, DDR). Скорость нагревания образцов во всех случаях — 1 град/мин, концентрация ДНК в ка-

лориметрических опытах ~500 мкг/мл в оптических — 30—35 мкг/мл. Погрешность калориметрических измерений ~5%.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Спектрофотометрические исследования выявили гетерогенность плавления комплекса ДНК-гистон Н1. Ока-

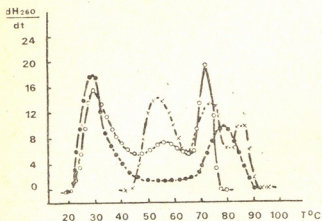


Рис. 1. Дифференциальные кривые плавления комплекса Н1-ДНК, полученного прямым смешиванием препаратов в 0,25 мМ ЭДТА (—) и 1 мМ NaCl (×), градиентным диализом в 0,25 мМ ЭДТА (○)

залось, что характер дифференциальных кривых плавления (рис. 1) зависит от метода реконструкции нуклео-

температурная — 70—90°C. При реконструкции градиентным диализом выявляются три стадии; дополнительный переход, в отличие от первого случая, можно объяснить отсутствием в молекуле гистона в ЭДТА-буфере упорядоченной структуры, в образовании которой существенную роль играют гидрофобные взаимодействия. Добавление этиленгликоля (табл. 1) вызывает смещение кривой плавления в низкотемпературную область, при этом T_{m1} уменьшается на 2°, а T_{m3} — на 3°. В ЭДТА при добавлении этиленгликоля сильнее дестабилизируются области ДНК, связанные с гистоном, а в NaCl этиленгликоль производит обратный эффект, действуя в большей мере на участки свободной ДНК. Это указывает на важность гидрофобных взаимодействий в структуре комплекса и свидетельствует об электростатическом характере защиты гистоном Н1 сегментов ДНК [6].

Добавление ионов магния различным образом стабилизирует участки ДНК (рис. 2): первые две стадии сме-

Таблица 1
Температура T_m (°C) и интервал плавления ΔT (°C) комплексов гистон Н1-ДНК, полученных градиентным диализом и прямым смешиванием

Измеряемые параметры	0,25 мМ ЭДТА (прямое смешивание)		0,25 мМ ЭДТА (диализ)		1 мМ NaCl	
	этиленгликоль в %					
	0	20	0	20	0	20
T_{m1}	28	26	30	28	55	36
ΔT_1	20	20	20	20	20	25
T_{m2}	—	—	56	50	75	59
ΔT_2	—	—	20	20	15	10
T_{m3}	78	73	73	65	86	72
ΔT_3	25	20	15	15	10	10
ΔT	70	60	55	55	45	50

гистона. При прямом смешивании препаратов в 0,25 мМ ЭДТА обнаруживаются две стадии плавления: низкотемпературная — 20—50°C и высоко-

температурная — 70—90°C. При реконструкции градиентным диализом выявляются три стадии; дополнительный переход, в отличие от первого случая, можно объяснить отсутствием в молекуле гистона в ЭДТА-буфере упорядоченной структуры, в образовании которой существенную роль играют гидрофобные взаимодействия. Добавление этиленгликоля (табл. 1) вызывает смещение кривой плавления в низкотемпературную область, при этом T_{m1} уменьшается на 2°, а T_{m3} — на 3°. В ЭДТА при добавлении этиленгликоля сильнее дестабилизируются области ДНК, связанные с гистоном, а в NaCl этиленгликоль производит обратный эффект, действуя в большей мере на участки свободной ДНК. Это указывает на важность гидрофобных взаимодействий в структуре комплекса и свидетельствует об электростатическом характере защиты гистоном Н1 сегментов ДНК [6].

бодными участками ДНК, затем с участками ДНК, связанными с N-концом гистона, и не взаимодействуют с фосфатами ДНК, связанными с C-концом гистона.

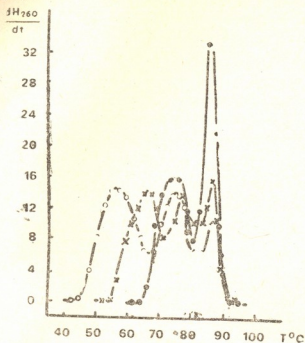


Рис. 2. Дифференциальные кривые плавления комплекса HI-ДНК в 1 мМ NaCl (○), 10⁻⁵ М MgCl₂ (×) и 5·10⁻⁵ М MgCl₂ (●)

На рис. 3 приведена микрокалориметрическая кривая плавления ДНК в 1 мМ NaCl и комплекса ДНК-гистон HI. Комплекс характеризуется двухстадийной кривой плавления с характеристическими температурами 57°C и 85°C. Отличие температур плавления первой и второй стадий в наших экспериментах чуть больше, полученного в работах [16, 21] — 25°. Увеличение содержания гистона в комплексе не смещает ни одну из стадий по температуре. Этот факт можно интерпретировать как результат связывания определенного участка ДНК с несколькими молекулами гистона, так как в противном случае увеличение р должно приводить к уменьшению средней длины плавящегося участка ДНК и повышению ее температуры плавления. Эксперименты с комплексом HI-ДНК, проведенные при комнатной температуре методами молекулярной фильтрации [7], избирательной адсорбции [20] и ультрацентрифугирования [18] также указывают, что кооперативность распределения вдоль ДНК есть характерное свойство гистона HI.

Калориметрические измерения температуры плавления на 3—5° больше вычисляемых по поглощению в ультрафиолете. Это можно объяснить либо существенно большей концентрацией препаратов в калориметрических опытах, либо наличием конденсированных упорядоченных структур, которые обуславливают различие температур плавления, полученных при измерении поглощения на 260 нм по круговому дихроизму [17].

В рамках теории перехода спирально-глобок можно рассчитать длину закрытых белком участков ДНК в нуклеопротенде по формуле

$$\bar{l} = \frac{315}{T_{M2} - T_{M1}},$$

которая получена в предположении, что 1) как свободные, так и закрытые белком участки имеют равную длину и 2) участки ДНК состоят из звеньев одного вида [1]. Подставляя в формулу $T_{M1} = 55^\circ\text{C}$ — температуру плавления ДНК без белка и T_{M2} — температуру плавления свободных участков ДНК в составе комплекса, найдем $\bar{l} \approx 160$. Если размеры свободных и закрытых участков ДНК превышают 300 звеньев, их температура плавления становится близкой к T_M бесконечного полимера с аналогичным строением (что действительно имеет место в экспериментах с малыми весовыми соотношениями гистон: ДНК), уменьшение же \bar{l} вызывает увеличение T_M [2].

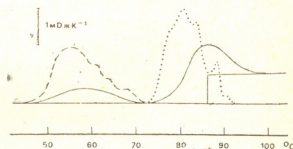


Рис. 3. Калориметрические кривые плавления: чистой ДНК (---), комплекса в 1 мМ NaCl (—), комплекса в 1 мМ NaCl+5·10⁻⁴ М MgCl₂ (···)

Если появление дополнительной стадии плавления и увеличение температуры плавления свободных участков ДНК можно было ожидать из модельных представлений комплекса гистон — ДНК, то несколько неожидан-



ным явилась меньшая по сравнению с ДНК теплота плавления комплекса ΔQ . Так, теплота плавления комплекса в 1 мМ NaCl составляет 30,0 кДж/мпо против 37,5 кДж/мпо для ДНК, а в 0,25 мМ ЭДТА эти величины еще больше отличаются друг от друга — 24,0 кДж/мпо и 50,0 кДж/мпо соответственно. В литературе отсутствуют калориметрические данные о тепловой денатурации комплекса Н1-ДНК, поэтому обратимся к результатам плавления нуклеосомных коровых частиц из эритроцитов цыплят [24] и ДНК,

параллельность укладки нуклеотидов. Для неполных мононуклеосомных частиц спектрофотометрические и микрокалориметрические эксперименты дают двухстадийную кривую плавления, а теплота плавления (пересчитанная на моль пар оснований ДНК) на каждой стадии равна 7,5 и 12,15 ккал [24]. В наших экспериментах на кривой, характеризующей изменение относительной теплоемкости комплекса (рис. 3), четко различаются две стадии плавления; их разделение и количественная характеристика невозможны,

Таблица 2

Параметры тепловой денатурации ДНК и комплекса гистон Н1-ДНК (КН1)
 $(T_{m1}, T_{m2}, \Delta T)$ — те же, что в табл. 1, $\Delta C_{рм}$ и $\Delta C_{нд}$ — в кДж/мпо·К,
 ΔQ — в кДж/мпо, ΔS — в энтроп. ед./мпо, $\Delta H_{эфф} = \frac{4R T_m^2 \Delta C_{рм}}{\Delta Q}$ — в кДж/моль)

Препарат	T_{m1}	T_{m2}	ΔT	$\Delta C_{рм}$	$\Delta C_{нд}$	ΔQ	ΔS	$\Delta H_{эфф}$	$\frac{\Delta H_{эфф}}{\Delta Q}$
ДНК в 1 мМ NaCl	55	—	32	3,0	0	37,5	28	280	7,2
КН1 в 1 мМ NaCl	57	85	43	—	1,3	30,0	—	—	—
ДНК в 0,25 мМ ЭДТА	50	—	35	4,1	0	50,0	37	285	5,7
КН1 в 0,25 мМ ЭДТА	52	—	31	1,3	0	24,0	17	193	8,1

Таблица 3

Параметры тепловой денатурации комплекса гистон Н1-ДНК в 1 мМ NaCl в присутствии ионов магния (обозначения те же, что в табл. 2)

Весовое соотношение ДНК:гистон	Концентрация $MgCl_2 \times 10^{-4} M$	T_{m1}	T_{m2}	T_{m3}	ΔT	ΔQ	ΔS	$\Delta C_{рм}$	$\Delta C_{нд}$	$\Delta H_{эфф}$	$\frac{\Delta H_{эфф}}{\Delta Q}$
0	5	80,5	83,5	88	23	42,0	29	4,0	0,50	400	9,6
0,45	5	—	82	86,0	25	43,0	29	3,8	1,3	360	8,4
0,6	2,5	75,5	83,0	—	36	44,0	—	—	1,3	—	—
0,6	5	—	82	86	24	38,0	23	4,0	0,92	415	11

ассоциированной с поли-L-лизинном [12], по которым теплота плавления как коровых частиц, так и модельного нуклеопротеида больше теплоты плавления нативной ДНК почти вдвое. Меньшую теплоту денатурации в наших экспериментах можно объяснить частичной денатурацией ДНК в составе комплекса. Но так как гиперхромизм комплекса (~37—38%) не меньше, чем у ДНК, то надо полагать, что гистон Н1, комплексируясь с ДНК, расплетает ее, не меняя па-

так как спектрофотометрические данные (рис. 1) выявляют три стадии денатурации. Дополнительный переход, в отличие от калориметрических двух, может означать конформационный переход, регистрируемый по изменению оптической плотности, который не сопровождается заметным изменением теплоемкости.

В 0,25 мМ ЭДТА реконструированный нуклеогистон дает одностадийную микрокалориметрическую кривую плавления (табл. 2), в то время как кало-



риметрическая кривая хроматина, обработанного ЭДТА, содержит две области поглощения тепла (74 и 82°C) [3]. В ЭДТА, также как и на первой стадии плавления комплекса в 1 мМ NaCl, температура плавления комплекса возрастает на 2° по сравнению со свободной ДНК, теплота денатурации и изменение энтропии комплекса падают почти вдвое, а отношение $\Delta N_{эфф}/\Delta Q$, определяющее размер кооперативной единицы плавления, растёт от 5,7 для ДНК до 8,1 для комплекса.

Данные по плавлению комплекса в присутствии ионов магния (табл. 3) свидетельствуют об обратимости связывания гистона H1 с ДНК или, по крайней мере, о большем сродстве ионов магния к ДНК по сравнению с гистоном. При низких концентрациях металл в первую очередь стабилизирует более легкоплавкую компоненту

комплекса, а при повышенных концентрациях металла ($5 \cdot 10^{-4}$ М MgCl₂, что соответствует соотношению металл: ДНК_ф = 1:2) плавление комплекса ДНК+гистон H1+Mg²⁺ в 1 мМ NaCl почти идентично плавлению ДНК с металлом.

В заключение отметим, что во всех экспериментах в области физиологических температур комплекс ДНК—гистон H1, как и сама ДНК, не претерпевает значительных предденатурационных изменений. Теплоемкость комплекса заметно меняется на второй стадии плавления (в табл. 3 это изменение записано как разность между теплоемкостями нативного и денатурированного состояний $\Delta C_{нд}$). Это изменение может быть связано с разрушением в ходе тепловой денатурации структур высшего порядка, в образовании которых важная роль принадлежит гистону H1 [4, 9, 11].

ЛИТЕРАТУРА

1. Ахрем А. А., Ландо Д. Ю., Андрианов В. Т. ДАН БССР, 21, 5, 463—466, 1977.
2. Ахрем А. А., Ландо Д. Ю., Крот В. И., Андрианов В. Т. Мол. биол., 11, 555—563, 1977.
3. Ахрем А. А., Лунец Е. Ф., Дорофеева Л. И., Синякин А. Н., Андрианов В. Т. Биофизика, 24, 836—838, 1979.
4. Георгиев Г. П., Бакаев В. В. Мол. биол., 12, 1205—1230, 1978.
5. Свенсон К., Уэбстер П. В кн.: Клетка, «Мир», М., 1980, 235—269.
6. Шевардинадзе Л. М., Заалишвили М. М. Изв. АН ГССР, сер. биол., 6, 1, 79—88, 1980.
7. Adler A. J., Fasman G. D. J. Phys. Chem., 75, 1516—1526, 1971.
8. Ansevin A. T., Brown B. W. Biochem., 10, 1130—1142, 1971.
9. Cole R. D., Lawson G. M., Hsiang M. W. Cold Spring Harbor Symp. Quant. Biol., 42, 235—263, 1978.
10. Garel A., Covacs A. M., Champagne M., Daune M. Biochem. Biophys. Acta, 395, 16—27, 1975.
11. Hohmann P. Subcellular Biochem., 5, 87—127, 1978.
12. Klump H. Biophys. Chem., 5, 363—367, 1976.
13. Li H. J. Biopolymers, 12, 287—295, 1973.
14. Lowry O. H., Rosenbergh N., Farr A., Bandall R. S. Biol. Chem., 192, 265—275, 1951.
15. Mirzabekov A. D., Shich V. V., Belijavsky A. V., Bavykin S. G. Proc. Nat. Acad. Sci. USA., 75, 4184—4188, 1978.
16. Olins D. E. J. Mol. Biol., 43, 439—460, 1969.
17. Ong E. E., Fasman G. D. Biochem., 15, 477—486, 1976.
18. Palau J., Climent F., Aviles F. J., Morros A., Soliva M. Bioch. Biophys. Acta, 476, 108—121, 1977.
19. Privalov P. L., Plotnikov V. V., Filimonov V. V. J. Chem. Thermodynamics, 7, 41—48, 1975.
20. Renz M. Proc. Nat. Acad. Sci. USA, 72, 733—736, 1975.
21. Senior M., Olins A., Olins D. Science, 187, 173—181, 1975.
22. Tuan D. I. M., Bonner J. J. Mol. Biol., 58, 661—674, 1971.
23. Van N. T., Ansevin A. T. Biochim. Biophys. Acta, 299, 367—377, 1973.
24. Weischet W. O., Tatchell K., Van Holde K. E., Klump H. Nucl. Acids Res., 5, 139—160, 1978.

დნმ-ჰისტონ H1 რეკონსტრუირებული კომპლექსის
მიკროკალორიმეტრიული შესწავლა

ი. ბერაშვილი, ლ. შვარცაძე, ვ. გერასიმოვი, მ. ჯალიშვილი

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

რ ე ზ ი უ მ ე

შესწავლილ იქნა დნმ-ჰისტონ H1 კომპლექსების სითბური დენატურაცია. აღმოჩნდა, რომ მიკროკალორიმეტრიული მეთოდით მიღებული კომპლექსების დნობის სურათი განსხვავდება სპექტროფოტომეტრიული მონაცემებისაგან. მიღებული შედეგები საშუალებას გვაძლევს ვივარაუ-

დოთ, რომ ჰისტონის დნმ-თან ურთიერთქმედებას კოოპერატიული ხასიათი აქვს. ამასთან, დენატურაციის შედეგად იშლება მაღალი რიგის სტრუქტურები, სახელობრ, კომპლექსს დენატურირებულ მდგომარეობაში, ნატივურთან შედარებით, მეტი სითბოტევადობა შეესაბამება.

MICROCALORIMETRIC STUDY OF HISTONE
HI-DNA RECONSTRUCTED COMPLEX

J. Sh. MEGRELISHVILI, L. M. SHEVARDNADZE,
V. V. GERASIMOV, M. M. ZAALISHVILI

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

S u m m a r y

Thermal denaturation of histone HI-DNA complexes has been studied by scanning calorimetry. The melting curve in 1 mM NaCl was shown to be of biphasic character with melting temperatures 57°C and 85°C. These values differ from those de-

finied by UV-measurements. The histone unfolds DNA partially during the binding but does not change the nucleotide parallel composition. Denaturation of the complex during heating leads to an increase of its heat capacity.

УДК 547.353

БИОФИЗИКА

О СУЛЬФИДРИЛЬНЫХ ГРУППАХ α -АКТИНИНА

Н. Ш. Надирашвили, М. Ш. Симонидзе, М. М. Заалишвили,
Ф. О. Шрайбман, Н. Н. Бокочадзе

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

Поступила в редакцию 02.06.1981

Установлено, что молекула α -актина содержит 16 сульфгидрильных групп, которые различаются по реакционной способности. Шесть SH-групп сравнительно легко обнаруживаются в нативном белке, четыре частично «маскированные» SH-группы титруются в слабнокислой среде, а пять-шесть SH-групп полностью замаскированы и проявляются лишь после денатурации белка. Биологическая активность α -актина, измеренная по образованию комплекса α -актинин—актин, подавляется при блокировании SH-групп α -актина парахлормеркурибензоатом. Показано, что частично замаскированные SH-группы α -актина, раскрывающиеся при увеличении температуры, не входят в состав активного центра и не принимают участие в функционировании белка.

Взаимодействие белков, в результате которого образуются белковые комплексы, обусловлено их функциональными группами. Выяснение локализации, реакционной способности и роли функционально важных групп является необходимым этапом в исследовании структуры и механизма действия физиологически активных белков. Среди различных функциональных групп белка особое место занимают сульфгидрильные группы, которые характеризуются высокой реакционной способностью и многообразием химических реакций. Сульфгидрильные группы в нативных белках выполняют различные функции: поддерживают нативную конформацию, участвуют в связывании кофакторов, в образовании и распаде фермент-субстратных комплексов и др. [7].

МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Гомогенный препарат α -актина кролика получали по модифицированному методу Голла и сотр. [2, 12]. Чистоту препарата проверяли методом электрофореза на 10%-ном акриламидном геле в присутствии 1%-ного додецилсульфата натрия [13] и опре-

Реакционная способность SH-групп изменяется в широких пределах. Согласно общепринятой классификации в белках существуют легко реагирующие, вяло реагирующие и «замаскированные» или «скрытые» SH-группы. SH-группы первого типа легко реагируют с мягкими окислителями и нитропруссидом, SH-группы второго типа взаимодействуют с более сильными окислителями и меркаптитобразующими реагентами, а к третьему типу относятся SH-группы, выявляющиеся после разрушения вторичной и третичной структур белка, т. е. после его полной денатурации [8, 9].

Целью настоящей работы являлось выявление реакционной способности сульфгидрильных групп α -актина и их роли в функционировании этого белка.

делением N-концевой аминокислоты [1].

Сульфгидрильные группы идентифицировали спектрофотометрическим методом Бойера [10], который основан на измерении прироста оптической плотности в области 250—255 нм,

вследствие присоединения к ним параклормеркурибензоата (ПХМБ). Спектрофотометрическое титрование проводили путем добавления определенного количества раствора ПХМБ к 2—3 мл раствора белка (каждую последующую порцию ПХМБ добавляли после прекращения прироста оптической плотности). Количество SH-групп определяли по формуле

$$n = \frac{C_2 V_2}{C_1 V_1},$$

где n — количество SH-групп; V_1 , C_1 и V_2 , C_2 — объем и концентрация белка и ПХМБ соответственно [4]. Концентрация ПХМБ определяли спектрофотометрически, с учетом того, что молярная экстинкция ПХМБ при 232 мкм равна $1,69 \cdot 10^4$, объем — по изгибу кривой на графике, отражающем при-

рост оптической плотности опытной пробы от количества добавляемого ПХМБ. Для определения количества SH-групп, помимо этого метода, нами был использован метод Элмана. 5,5 — дитиобис (2-нитробензоат) — ДТНБ при взаимодействии с SH-группами белка образует смешанный дисульфид и окрашенный анион 2-нитро-5-тоибензоата в эквивалентном соотношении. Количество последнего определяется спектрофотометрическим методом. Зная, что молярная экстинкция 2 нитро—5 тиобензоата при 412 мкм равна $1,39 \cdot 10^4$, легко можно рассчитать количество SH-групп.

Кинетику образования комплекса α -актинин—актин из нативного актина и модифицированного α -актинина изучали вискозиметрическим методом. Результаты измерений выражали в единицах удельной вязкости.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

Согласно литературным данным [12] в молекуле нативного и денатурированного α -актинина свиньи количество проявляющихся SH-групп равно 6 и 17—18 соответственно. Однако из данных наших предыдущих работ [3, 5] и настоящей следует, что в молекуле нативного и денатурированного α -актинина (м. в. 200 000) кролика количество титруемых SH-групп равно 6 и 16 соответственно (таблица).

Оказалось, что с возрастанием температуры от 16 до 35°C число проявляющихся SH-групп α -актинина увеличивается с 6 до 8, хотя в этом ин-

стью сохраняется. Как видно из рис. 1, препараты α -актинина, проинкубированные при разных температурах, в равной степени увеличивают

Таблица
Число определяемых SH-групп α -актинина в различных условиях

Условия	Число SH-групп
1 мМ NaHCO ₃ , pH 8,3	6,0
0,05 М фосфатный буфер, pH 7,0	6—7,5
0,05 М фосфатный буфер, pH 5,8	10—11
0,5—10 %-ный додецилсульфат натрия	15—16
1 мМ NaHCO ₃ , 0,1 М KCl, 25°C	6,5
1 мМ NaHCO ₃ , 0,6 М KCl, 25°C	6,5
1 мМ NaHCO ₃ , pH 8,3, 16°C	5,7
1 мМ NaHCO ₃ , pH 8,3, 25°C	6,6
1 мМ NaHCO ₃ , pH 8,3, 35°C	7,8

вязкость Ф-актина. Таким образом, «раскрытие» дополнительных SH-групп нативного α -актинина под влиянием температуры не влияет на биологическую активность последнего. Отсюда следует, что частично «замаскированные» SH-группы α -актинина, которые проявляются с повышением температуры, не входят в состав «активного» центра этого белка.

Изменение количества титруемых SH-групп наблюдается также при изме-

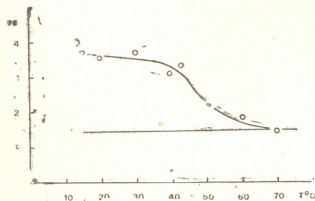


Рис. 1. Влияние температуры на образование комплекса α -актинин—актин: 1—вязкость Ф-актина; 2—вязкость комплекса

тервале температуры биологическая активность белка, определяемая по степени образования поперечных связей между нитями Ф-актина, полно-

нении pH раствора белка (таблица). Из таблицы видно, что при уменьшении pH число определяемых SH-групп возрастает от 6 до 10. Таким образом, α -актинин, подобно многим другим белкам, содержит SH-группы различного типа: легкореагирующие — шесть, частично маскированные — четыре и скрытые — шесть.

Как указывалось выше, α -актинин образует поперечные связи между Ф-актиновыми нитями и заметно увеличивает Г-Ф переход актина. Для выяснения роли SH-групп α -актинина в данном процессе исследовали комплекс α -актинин—актин с блокированными SH-группами α -актинина. На рис. 2 показано образование комплекса α -актинин—актин из нативного актина и модифицированного α -актинина. Для получения комплекса выбрали оптимальные условия (ионная сила 0,1 и количество α -актинина 2—4% от веса актина). К Г-актину добавляли α -актинин, инкубированный с различным кратным эквивалентным количеством ПХМБ, и раствор KCl, доведенный до концентрации 0,1 М; через 30 мин измеряли вязкость комплекса. Согласно полученным результатам при блокировании SH-групп ПХМБ наблюдается уменьшение вязкости комплекса. Так например, при блокировании трех SH-групп остаточная активность α -актинина составляет 30%. Резюмируя полученные результаты, можно заключить, что экспонированные SH-группы α -актинина, по крайней мере две, являются функционально активными и принимают непосредственное участие в образовании белкового комплекса α -актинин—актин.

Ранее [6] было показано, что при изменении ионной силы существенно изменяется скорость образования комплекса α -актинин—актин. В связи с этим исследовали изменение количества SH-групп нативного α -актинина в зависимости от ионной силы (табли-

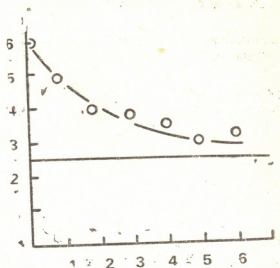


Рис. 2. Образование комплекса α -актинин—актин из нативного актина и модифицированного α -актинина: 1 — удельная вязкость Ф-актина; 2 — удельная вязкость комплекса

ца). Оказалось, что при температуре 25°C в растворе, содержащем 0,1 М KCl (оптимальное условие для получения комплекса), и в растворе, содержащем 0,6 М KCl (минимальное условие для получения комплекса), титруется одинаковое количество SH-групп — 6,5. Из этих результатов следует, что при высокой ионной силе электростатическое взаимодействие является доминирующим фактором при образовании комплекса α -актинин—актин.

ЛИТЕРАТУРА

1. Беленький Б. Г., Ганкина Э. С., Нестеров В. В. ДАН СССР, 172, 91—94, 1967.
2. Заалишвили М. М. В сб.: Биофизические и биохимические методы исследования мышечных белков, «Наука», Л. 1978, 165—179.
3. Надирашвили Н. Ш., Симонидзе М. Ш., Заалишвили М. М. Сообщения АН ГССР 99, 685—688, 1980.
4. Стародуб Н. Ф. В сб.: Методы молекулярной биологии, «Наукова думка», Киев, 1979, 176—191.
5. Симонидзе М. М., Надирашвили Н. Ш., Заалишвили М. М. Изв. АН ГССР, сер. биол., 6, 3, 285—287, 1980.
6. Симонидзе М. Ш., Бокочадзе Н. Н., Заалишвили М. М. Сообщения АН ГССР, 77, 185—188, 1975.
7. Торчинский Ю. М. Успехи совр. биол., 66, 13—32, 1968.
8. Торчинский Ю. М. Успехи совр. биол., 55, 161—181, 1963.
9. Торчинский Ю. М. Сера в белках, «Наука», М., 177, 142—156.



10. Boyer P. D. J. Amer. Chem. Soc., 76, 4331—4337, 1954.
 11. Ellman G. L. Arch. Biochem. Biophys., 81, 70—77, 1959.
 12. Suzuki A., Goll D. E., Singh I., Alles R. E., Robson R. M., Mer N. H. J. Biol. Chem., 251, 6860—6870, 1976.
 13. Weber K., Osborn M. J. Biol. Chem., 244, 4406—4412, 1969.

α-აქტინინის სულფჰიდრილური ჯგუფების შესახებ

ნ. ნადირაშვილი, მ. სიმონიძე, მ. ჯაალიშვილი, ფ. შრაიბმანი, ფ. ბოქოჩაძე

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

რ ე ზ ი უ მ ე

ნაჩვენებია, რომ α-აქტინინის მოლეკულა შეიცავს 16 SH-ჯგუფს, რომლებიც ერთმანეთისაგან მკვეთრად განსხვავდებიან რეაქციის უნარით. ექსპონირებული SH-ჯგუფების ბლოკირება ცილაში იწვევს თვით ცილის ბიოლოგიური აქტივობის დაქვეითებას. α-აქტინინის ნაწილობრივ შენიღბული SH-ჯგუფები, რომელთა გა-

მოვლინება ხდება ტემპერატურის გაზრდით, გავლენას არ ახდენს α-აქტინინის აქტივობაზე. გამოთქმულია მოსაზრება, რომ ეს ნაწილობრივ შენიღბული SH-ჯგუფები არ შედიან „აქტიური ცენტრის“ შემადგენლობაში და ცილის ფუნქციონირებაში მონაწილეობას არ ღებულობენ.

ON SULFHYDRYL GROUPS OF α-ACTININ

N. Sh. NADIRASHVILI, M. Sh. SIMONIDZE, M. M. ZAALISHVILI, F. O. SHRAIBMAN, N. N. BOKOCHADZE

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

S u m m a r y

α-actinin molecule (m. w. 200 000) was shown to contain 16 SH-groups, which differ sharply in reaction ability. The blocking of the exposed SH-groups in protein provokes the decrease of biological activity of the latter. The exposure of partially mask-

ed SH-groups by the temperature increase does not affect the α-actinin activity.

The supposition is expressed that the partially masked SH-groups are not involved in the structure of «active centre».

УДК 576.858.9:547.963.3

МОЛЕКУЛЯРНАЯ БИОЛОГИЯ

ФИЗИКО-ХИМИЯ И СТРУКТУРНАЯ ОРГАНИЗАЦИЯ ВИРИОНОВ НОВЫХ ДНК-СОДЕРЖАЩИХ ФАГОВ

И. А. Андришвили, Л. И. Квачадзе, А. М. Михайлов,
Д. Г. Тушишвили, Т. Г. Чанишвили

Тбилисский научно-исследовательский институт вакцин и сывороток МЗ СССР

Поступила в редакцию 03.07.1981

Методом электронной микроскопии изучена морфология вирионов новых ДНК-содержащих фагов, паразитирующих на штаммах *Esherichia*, *Shigella*, *Salmonella* и *Staphilococcus*. Определены значения констант седиментации, молекулярных масс, плавучих плотностей, содержания ДНК и белка, а также размеры интактных фаговых частиц. Установлено количество индивидуальных полипептидных цепей, участвующих в построении вириона каждого бактериофага. Методом синтеза модифицированных проектирующих функций из двумерного изображения отростка фага ФИ-5 восстановлена его трехмерная пространственная структура. Построена модель отростка фага ФИ-5 в интактном состоянии.

Трудно переоценить значение бактериальных вирусов — популярнейших объектов фундаментальных исследований — в становлении и развитии современной молекулярной биологии. Достаточно отметить тот факт, что одна из наиболее перспективных и быстро прогрессирующих разделов данной дисциплины — генная инженерия — возникла и развивается, благодаря исследованиям молекулярных механизмов феномена бактериофагии. В этой связи очевидно, что изолирование и всестороннее исследование каждой новой фаговой системы представляет несомненный научный интерес.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

В работе использовались коли-дизентерийные фаги ФИ-1, ФИ-5, селекционированные Андришвили и др. [1], лечебный фаг Sv-1 *Staphilococcus aureus* и диагностический фаг JRA *Salmonella typhimurium* из коллекции ТбилНИИВС.

Фаги выращивали в 16-литровом стеклянном ферментере. Очистку и концентрацию проводили на ДЭАЭ-целлюлозе и дифференциальным цент-

В настоящее время ТбилНИИВС располагает богатейшей в стране коллекцией бактерий и бактериофагов самых различных таксономических групп. Многие системы, изолированные в институте, обладают уникальными биологическими свойствами и интенсивно исследуются с точки зрения молекулярной организации и физико-химических основ инфекционного процесса. Настоящая работа посвящена исследованию физико-химических параметров и принципов структурной организации вирионов ДНК-содержащих фагов различных таксономических групп.

рифугированием [8]. Дополнительную очистку фагов осуществляли в градиенте плотности C_6Cl_6 и хроматографией на Биогеле Р-300 [5].

Структуру фаговых частиц исследовали в электронном микроскопе JEM 100 С. Препараты контрастировали либо уранилацетатом, либо фосфорновольфрамовой кислотой (ФВК) — рН 6,0—6,5.



Константу седиментации вирионов определяли на аналитической ультрацентрифуге Spinco модель E в роторе АпЕ при 10000 об/мин и 20°C в 30-миллиметровых алюминиевых кюветах. Величину S_{0w}^0 определяли экстраполяцией коэффициентов седиментации различных концентраций к нулевому разведению.

Молекулярную массу фаговых частиц вычисляли из значений S_{0w}^0 по модифицированному выражению Питота [11].

Равновесное центрифугирование суспензии фагов проводили в ультрацентрифуге Spinco модель L2 65B при 45000 об/мин 16 ч в преформированном линейном градиенте плотности C_2Cl . Процентное содержание ДНК и белка определяли из значений плавающих плотностей макромолекулярных компонентов и вирионов [6].

Анализ тотального белка вирионов фагов осуществляли путем электрофореза в 10%-ном полиакриламидном

геле в присутствии додецилсульфата натрия [10].

Исследование пространственной трехмерной структуры отростка фага ФИ-5 проводили в реальном пространстве методом синтеза модифицированных проектирующих функций [2]. Для определения основных параметров отростка, характеризующегося ротационно-трансляционной симметрией, применяли методы оптической дифракции и оптической фильтрации [7]. Дифрактограммы получали на дифрактометре с неонгелиевым лазером ЛГ-

35, $\lambda = 6328 \text{ \AA}$. Для восстановления значений элементарного диска микрофотография отростка фотометрировалась на микроденситометре «joice-Loebl» (Англия) с пучком сканирования объекта с параметрами: ΔZ (вдоль оси отростка) = 10 \AA ; $\Delta r = 4 \text{ \AA}$. Молекулярную массу асимметричных белковых субъединиц определяли по формуле $M = \rho V$, где ρ — средняя плотность белка, V — объем частицы в \AA^3 .

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

В настоящее время наши сведения относительно биологии и физико-химии бактериальных вирусов в основном ограничиваются результатами интенсивного исследования лишь небольшой группы фагов, паразитирующих на различных штаммах кишечной палочки. Несмотря на то, что за последнее десятилетие повышение интереса к рестриктирующим эндонуклеазам и другим компонентам генноинженерного комплекса повлекло расширение таксономического круга исследуемых систем фаг-бактерия, количество всесторонне изученных фаговых объектов остается все еще недостаточным. Исследуемые в настоящей работе бактериофаги являются гетерогенными не только по таксономическому признаку, что, естественно, определяет их биологическую обособленность, но и по характеру структурной организации вириона.

На рис. 1 приведены электронмикроскопические фотографии фагов ФИ-1, ФИ-5, Sv-1 и JRA. Как следует из рисунка, вирионы всех четырех фагов состоят из головки с кубической симметрией капсиды и цилиндрического отростка. Следует отметить, что ес-

ли первые три фага снабжены отростком, способным к сокращению чехла при инъекции вирусной ДНК в клетку-хозяина, сальмонеллезный фаг JRA «вооружен» длинным несократимым отростком (размеры фаговых частиц даны в таблице). Вместе с тем из микрофотографии видно, что головки фагов ФИ-5, Sv-1 и JRA характеризуются параметрами симметрии правильного многогранника, тогда как головка фага ФИ-1, наподобие T-четных фагов, представлена белковой капсидой формы удлиненного икосаэдра [9]. Таким образом, объекты настоящего исследования проявляют определенные различия в морфологической и функциональной организации вириона, которые однако укладываются в рамки общепринятых представлений о структуре частиц бактериофагов, содержащих двуспиральные ДНК [9].

На рис. 2 приведен характер зависимости коэффициентов седиментации частиц исследуемых бактериофагов от концентрации суспензии вируса. Экстраполяция к нулевой концентрации дает значение константы седиментации фага, величина которой, являясь физико-химической характеристикой

объекта, одновременно позволяет определить его молекулярную массу [11]. Как следует из рисунка, за исключением фага JRA, значения S_{20w}^0 вирионов в широком пределе практически не зависят от концентрации, а рассчитанные величины молекулярных весов фаговых частиц, согласно модифицированному выражению Питоута [11], составляют 158, 110, 150 и 75 мегадальтонов для фагов ФИ-1, ФИ-5,

воздействиям. Следует полагать, что природная лабильность этой субструктуры затрудняет также точное определение количества белков интактных вирионов JRA (таблица).

В таблице приведены значения плаучей плотности фаговых частиц, определенных при равновесном центрифугировании в градиенте плотности C_8Cl_4 . Из сопоставления этих величин с значениями ρ макромолекулярных

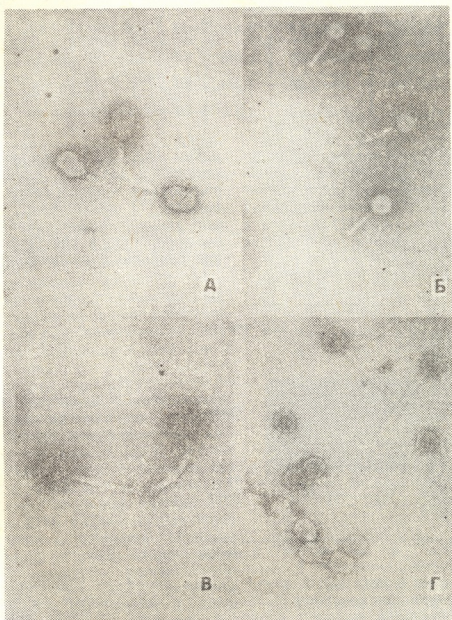


Рис. 1. Электронномикроскопические фотографии фагов: А—ФИ-1; Б—ФИ-5; В—Sv-1 и Г—JRA. $\times 100000$

Sv-1 и JRA соответственно (см. также таблицу). Что касается особенностей характера седimentации фага JRA, по всей вероятности, они определены наличием длинного нитевидного отростка, лабильного к гидродинамическим

компонентов фага [6] следует, что содержание ДНК в составе вирионов исследуемых фагов варьирует в пределах 41—53%. Кроме того, судя по значениям ρ интактных вирионов, можно заключить, что исследуемые фаги про-

являют нуклеопротеидную природу, т. е. построены исключительно из ДНК и белка [6].

Сравнительный анализ сложности состава белкового компонента фагов методом электрофореза в полиакриламидном геле показал, что вирионы по-

ность из двумерных изображений, математическим путем восстановить трехмерную структуру объекта [3]. Для проведения трехмерного анализа необходимо определить параметры спирали методом оптической дифракции. Анализ оптических дифракто-

Т а б л и ц а
Физико-химические параметры вирионов ДНК-содержащих фагов

Фаг	Размеры в Å		ρ CsCl, г/см ³	S ²⁰ _{20w}	M, мега- далтон	Содержание, %		№ белков вириона
	головка	отросток				ДНК	белок KQ	
ФИ-1	950×650	1000×200	1,475	810	158	41	59	22
ФИ-5	600×600	1000×150	1,495	590	110	47	53	15
SB-1	850×850	1800×150	1,484	770	150	48	52	18
IRA	750×750	2700×150	1,517	476	75	53	47	—

строены из разного количества индивидуальных полипептидных цепей, причем, как следует из таблицы, наблюдается определенная корреляция между молекулярной массой фага и гетерогенностью состава его белковой капсулы.

грамм (рис. 3А) и изображений «передней» и «задней» сторон отростка, полученных методом оптической фильтрации [7], показывает, что чехольные асимметричные единицы упакованы в отростке в соответствии с группой спиральной симметрии с парамет-

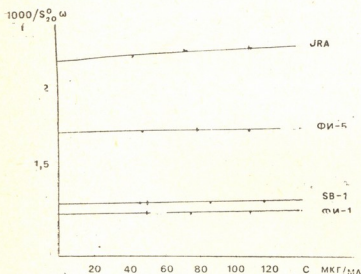


Рис. 2. Зависимость коэффициентов седиментации фаговых частиц от концентрации суспензии вируса

Особый интерес представляет изучение принципа укладки белковых молекул в сократительном аппарате фаговых частиц и вопрос о пространственной структуре отростка в целом. Подобные исследования были проведены на сократительном отростке фага ФИ-5. Поскольку отростки бактериофагов характеризуются периодичностью укладки в одном направлении и их строение описывается группами спиральной симметрии [12], использование именно этого свойства дает возмож-

рами N=6 — заходность спирали, q=3 — число витков на период трансляции, p=7 — число асимметричных единиц на период трансляции, что соответствует кристаллографическому выражению S 7/3 6 [4]. Такую структуру можно представить в виде стопки элементарных дисков (рис. 3), повернутых относительно друг друга на угол $2\pi q/p$, что в данном случае составляет $25,7^\circ$. Правильность выбора величин p, q и N проверялась методом моделей.

На рис. 3 вместе с оптической дифрактоммой (А) изображены модели элементарного диска (Б) и отростка ФИ-5 (В) в интактном состоянии. Стержень, как и чехол, представлен стопкой дисков из шести асимметричных единиц с молекулярной массой 9×10^6 Д. Асимметричные единицы чехла имеют вид димера с $M = 70 \times 10^3$ Д. Большие и малые частицы могут быть аппроксимированы трехосным эллипсоидом с полуосями $30 \times 17 \times 18 \text{ \AA}$ и $20 \times 10 \times 18 \text{ \AA}$ соответственно. На расстоянии 52 \AA от оси отростка наблюдаются пустоты, не образующие спиральных желобов. Подобная упаковка асимметричных единиц в чехле не должна быть плотнее, что, возможно, характерно для сокращенного чехла.

Следует отметить, что как по характеру структурной организации вириона, так и по приведенным выше основным физико-химическим параметрам, исследованные нами фаги, активные к штаммам *Esherichia*, *Shigella*, *Salmonella* и *Staphilococcus*, существенно отличаются от широко известных «эталонных» бактериофагов [9, 12].

Поскольку основной целью проводимых нами работ является всестороннее молекулярно-биологическое изучение новых ДНК-содержащих фагов различных таксономических групп, следует еще раз подчеркнуть научную значимость подобных исследований. Прежде всего, как известно, открытие «атипичных» форм нуклеиновых кислот — односпиральных ДНК, двуспиральных РНК, суперспирализованных циклических ДНК и т. д. — связано с исследованием вирусных частиц. Исследование ДНК различных бактериофагов привело к открытию аномальных оснований и других отклонений в первичной структуре полинуклеотидов; наконец, обнаружение феномена модификации и рестрикции фаговой ДНК, создание векторных систем на основе генома бактериальных вирусов обусловило успехи современной геновой инженерии. Поэтому очевидно, что молекулярно-биологическое исследование каждого нового бактериофага, являясь характеристикой определенного вирусного вида, вместе с тем расширяет наши представления о структуре и функционировании генома в целом.

Вместе с тем значение исследования обработанных нами бактериофагов не ограничивается одним фундаментальным интересом. Фаг Sv-1 является активным компонентом лечебного препарата, применяемого, в частности, внутривенно при стафилококковых сепсисах. Фаги ФИ-1 и ФИ-5 могут быть применены при кишечных заболеваниях коли-дизентерийной этиологии, а фаг JRA *Salmonella typhimurium* является диагностическим бактериофагом. В этой связи необходимым этапом для научно обоснованного применения перечисленных фагов является установление их молекулярной организации и физико-химических особенностей репродукции.

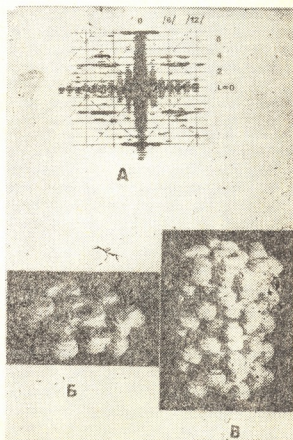


Рис. 3. Оптическая дифрактограмма от отростка фага ФИ-5 (А), модель элементарного диска (Б) и отростка фага (В)

Полученные в настоящей работе результаты показывают, что изучаемые фаги характеризуются определенным разнообразием структуры и физико-химических параметров вирионов. Если фаг ФИ-1 по ряду признаков можно отнести к родственной Т-четным фагам группе [9], то фаг ФИ-5 является самым мелким из известных вирусов, обладающим наиболее сложным



строением адсорбционного аппарата. Что касается фагов Sv-1 и JRA, то они относятся к наименее изученным группам бактериальных вирусов и по этой причине определение параметров их вирионов представляет особый интерес.

• Определение трехмерной структуры фаговых отростков, которое в настоящее время осуществлено только для Т-четных фагов [7, 12], также немаловажно с точки зрения расшифровки общих принципов построения биологических субструктур. Полученные нами

данные указывают, что сокращенный отросток фага ФИ-5 при наличии индивидуальных свойств проявляет определенное сходство со строением отростка фага Т4 [12]. В частности, при различиях в значении p и q в обоих случаях элементарные диски отростка имеют вращательную ось симметрии 6-го порядка. Однако, в отличие от Т-четных фагов, упаковка элементарных дисков отростка фага ФИ-5 такова, что «пустоты» не образуют спиральных каналов вдоль длинной оси частицы.

ЛИТЕРАТУРА

1. Андриашвили И. А., Тихоненко Т. И., Гушин Б. В. *Вопр. вирусол.*, 5, 532—534, 1971.
2. Вайнштейн Б. К., Михайлов А. М. *Кристаллография*, 17, 258—263, 1972.
3. Вайнштейн Б. К., Орлов С. С. *Кристаллография*, 17, 253—257, 1972.
4. Вайнштейн Б. К. Дифракция рентгеновых лучей на цепных молекулах, Изд-во АН СССР, М., 1963.
5. Кислина О. С., Народицкий Б. А., Мацарелли М., Тихоненко Т. И. *Акта вирол.*, 12, 435—440, 1968.
6. Лурия С., Дарнелл Дж. В кн.: *Общая вирусология*, «Мир», М., 1970, 57—58.
7. Михайлов А. М., Вайнштейн Б. К. *Кристаллография*, 16, 505—515, 1971.
8. Тихоненко Т. И., Коуделка Я., Боршполец З. И. *Микробиология*, 82, 723—727, 1963.
9. Тихоненко А. С. В кн.: *Ультраструктура вирусов бактерий*, «Наука», М., 1968, 66.
10. Laemli U. K. *Nature*, 227, 680—685, 1970.
11. Pitout M. G., Conradie G. B., van Rensburg A. I. J. *Gen. virol.*, 4, 577—583, 1969.
12. De Rozier D. I., Klug A. *Nature*, 217, 130—136, 1968.

დნმ-ის შემცველი ახალი ფაგების ვირიონთა ფიზიკა-ქიმიკა და სტრუქტურული ორგანიზაცია

ი. ანდრიშვილი, ლ. კვახაძე, ა. მიხაილოვი, ღ. თუშოვილი, თ. პანოშვილი

სსრკ ჯანმრთელობის დაცვის სამინისტროს თბილისის ვაქცინებისა და შრატების კვლევითი ინსტიტუტი

რ ე ზ ი უ მ ე

ელექტრონულ-მიკროსკოპიულად შესწავლილ იქნა *Esherichia*, *Shigella*, *Salmonella* და *Staphilococcus* ბაქტერიული შტამების მიმართ აქტიური დნმ-ის შემცველი ახალი ფაგების ვირიონთა მორფოლოგია.

განსაზღვრულ იქნა ინტაქტური ფაგური ნაწილაკების ზომები, სედიმენტაციის კონსტანტების, მოტივტივე სიმკვრივეების, მოლეკულური მასების მნიშვნელობები და აგრეთვე ვირიონებში დნმ-ისა და

ცილების პროცენტული შემცველობა. აღდგენილ იქნა ყოველი ბაქტერიოფაგის კორპუსკულის შემადგენლობაში შემავალი ინდივიდუალური პოლიმერული ჯაჭვების რაოდენობა. მოდიფიცირებულ პროექციულ ფუნქციათა სინთეზის მეთოდით FJ-5 ფაგის წანაზარდის ორგანოზომილებიანი გამოსახულებიდან აღდგენილია მისი სამგანზომილებიანი სივრცული სტრუქტურა. ავებულია ფაგ FJ-5-ის ინტაქტური წანაზარდის მოდელი.

PHYSICO-CHEMISTRY AND STRUCTURAL ORGANIZATION OF
VIRIONS OF NEW DNA-CONTAINING PHAGES



I. A. ANDRIASHVILI, L. I. KVACHADZE, A. M. MIKHAILOV,
D. G. TUSHISHVILI, T. G. CHANISHVILI

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

S u m m a r y

Morphology of virions of new DNA-containing phages active to the different strains of *Esherichia*, *Shigella*, *Salmonella* and *Staphilococcus* was studied by electron microscopy. The values of sedimentation constants, molecular weights, buoyant densities, DNA and protein contents, as well as sizes of intact phage particles were determined.

The number of individual polipeptide chains which participate in constructing the virion of each bacteriophage was also established.

By the method of synthesis of modified projecting functions the three-dimensional spatial structure of tail of the phage FJ-5 was restored from its two-dimensional image and the model of tail of the phage FJ-5 in intact condition was constructed.

РЕЦЕНЗИИ

И. М. АЙВАЗАШВИЛИ. РЕЦЕНЗИЯ НА МОНОГРАФИЮ А. Н. БАКУРАДЗЕ, Л. Н. ГУГУШВИЛИ, Т. Л. НАНЕИШВИЛИ, И. С. БЕРИТАШВИЛИ «ОТСРОЧЕННОЕ ПОВЕДЕНИЕ И РАССУДОЧНАЯ ДЕЯТЕЛЬНОСТЬ НИЗШИХ ОБЕЗЬЯН», ТБИЛИСИ, «МЕЦНИЕРЕБА», 1981, 99 с.

В коллективной монографии, выполненной под руководством проф. А. Н. Бакурадзе, обобщены результаты небольшого, но очень важного этапа исследовательской работы, проведенной в лаборатории по изучению поведения приматов Института физиологии им. И. С. Бериташвили АН ГССР. Следует отметить, что лаборатория эта в Советском Союзе является одной из четырех, где систематически изучаются нейропсихологические основы поведения приматов. Основоположниками этого важного научного направления в Грузии являются акад. И. С. Бериташвили и А. Н. Бакурадзе, который и в настоящее время широко пользуется идеями И. С. Бериташвили и успешно развивает его богатое научное наследие.

В рецензируемой работе в основном представлены результаты исследования образной кратковременной памяти — наиболее сложного аспекта высшей нервной деятельности приматов. Важная особенность этих исследований заключается в том, что индивидуальная память у обезьян изучается в условиях свободной двигательной активности с помощью оригинального варианта метода отсроченных реакций (впервые предложенного И. С. Бериташвили), а не в условиях фиксации животного в специальном приматологическом кресле. Нужно согласиться с авторами, что обезьяны, находящиеся в приматологическом кресле, совершенно лишены свободной двигательной активности, и это обстоятельство сильно мешает проявлению у них истинных способностей индивидуальной памяти. В этом отношении тестирование памяти в условиях свободной двигательной активности дало авторам монографии возможность в полной мере охарактеризовать количественные и качественные особенности образной памяти обезьян. Можно привести лишь один пример. Если длительность кратковременной памяти у обезьян, фиксированных в приматологическом

кресле, обычно равняется максимум 1—2 минутам, то в условиях свободной двигательной активности следы однократного зрительного восприятия местонахождения пищи удерживаются в их памяти в течение нескольких часов.

Особый интерес представляет также фактический материал, касающийся проблемы структурной и функциональной организации образной кратковременной памяти низших обезьян (макак и павианов). В результате хирургических удалений лобной, теменной и височной областей неокортекса установлено, что в формировании и реализации образной кратковременной памяти участвуют все указанные структуры мозга. Однако наиболее сильное и продолжительное нарушение данной формы памяти наступает при двустороннем повреждении коры, находящейся вокруг главной борозды лобной области. Вместе с тем показано, что у оперированных животных наблюдается также повышенная возбудимость, они легко подвергаются интерферирующим воздействиям, иначе говоря у них сильно повышается чувствительность к внешним факторам и в результате этого расстраивается и функция внимания.

Сложными микрофизиологическими экспериментами, проведенными в хронических условиях, с целью анализа полученных фактов, авторами монографии установлено, что активность корковых нейронов вокруг главной борозды находится в определенной корреляции со свойствами действовавшего внешнего стимула. В этой области коры широко представлены нейроны, которые легко подвергаются габитуации и поэтому они при необходимости могут избавить организм от реагирования на всевозможные раздражители, независимо от их биологической значимости. Все это бесспорно свидетельствует о том, что область коры вокруг основной борозды участвует в механизмах внимания. В средних и задних ча-

стях коры вокруг главной борозды обнаружены нейроны, активность которых коррелирует с правильными решениями пространственных отсроченных реакций, являющихся тестом обр-азной кратковременной памяти.

На основании тщательного экспериментального анализа полученных фактов авторы совершенно справедливо приходят к важному заключению, что расстройство кратковременной памяти у приматов обусловлено не только возникшим дефицитом внимания животного (как это утверждается американскими исследователями), но и нарушением самой функции удержания следов памяти.

И, наконец, основное достоинство фактического материала, представленного по проблеме памяти, заключается в том, что он получен на приматах. Кроме того, впервые осуществлено комплексное изучение нервных механизмов образной кратковременной памяти приматов с применением поведенческих, нейрофизиологических и микрофизиологических методов исследований, причем на современном, очень высоком техническом уровне.

В последнем разделе монографии печатается статья акад. И. С. Бериташвили, которая вызывает чрезвычайно большой интерес. В последние годы жизни И. С. Бериташвили, на основании анализа ранних многолетних наблюдений поведения птиц и млекопитающих, допускал возможность наличия у животных рассудочной деятельности, которая, по его мнению, регулирует их целесообразные, произвольные реакции. По И. С. Бериташвили в основе произвольных, целесообразных поведений высших позвоночных животных лежит репродукция сохранившихся в памяти образов внешней среды, которые формировались у них в течение индивидуальной жизни, что касается конкретных путей достижения цели, то они, как предполагает И. С. Бериташвили, планируются на основе рассудочной деятельности животного. Эта последняя идея И. С. Бериташвили заслуживает особого интереса, так как в настоящее время вопрос о рассудочной деятельности животных широко обсуждается у нас и за рубежом. Интерес маститого ученого к проблеме рассудочной де-

ятельности в последние годы жизни не был случайным, он являлся логическим следствием той огромной и многогранной научной деятельности, которую он вел в течение 70 лет и которая была начата в свое время изучением простых спинно-мозговых рефлексов.

Предположение И. С. Бериташвили о рассудочной деятельности животных не было опубликовано при его жизни. Оно впервые печатается в данной монографии в виде небольшой статьи, которая была написана им незадолго до кончины. Публикуемая статья не претендует на всесторонний анализ проблемы рассудочной деятельности животных, ибо смерть застала И. С. Бериташвили на самом начальном этапе этой исследовательской работы. Однако в статье, кроме первого предположения о рассудочной деятельности животных, описан также целый ряд очень интересных и сложных поведенческих актов птиц и млекопитающих, которые могут послужить доказательством рассудочной деятельности животных.

Рецензируемая монография, выполненная под руководством чл.-корр. АН ГССР профессора А. Н. Бакурдзе, содержит новый фактический материал, имеющий важное теоретическое и практическое значение и поэтому, несомненно, будет представлять большой интерес для нейропсихологов, нейрофизиологов, неврологов и клиницистов.

ი. აივაშვილი. რეცენზია ა. ბაკურძის, ლ. გუგუშვილის, თ. ნანეიშვილის, ი. ბერიტაშვილის კოლექტიურ მონოგრაფიაზე „უღაბლესი მაიმუნების დაყოფებუ-ლი ქცევა და გონიერი მოქმედება“, თბილისი, „მეცნიერება“, 1981, 99 გვ.

I. M. Aivasashvili. Review of A. N. Bakuradze, L. N. Gugushvili, T. L. Naneishvili and I. S. Beritashvili book „Delayed behavior and rational activity of primates“, Tbilisi, „Metsniereba“, 1981, 99 p.

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

Сдано в набор 12.12.1981; Подписано к печати 29.03.1982; Формат бумаги
70×101¹/₁₆; Бумага № 1; Высокая печать; Усл. печ. л. 6,3; Уч.-издат. л. 5,9
УЭ 05412; Тираж 1000; Заказ 92
Цена 85 коп.

გამომცემლობა „მეცნიერება“, თბილისი, 80060, 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

б. 28/89



Цена 85 коп.

Индекс 76204