

BIOLOGICAL SERIES

184-3 /  
1983 / 2



ISSN—0321-1665

საქართველოს სსრ მეცნიერებათა აკადემიის მაცნე

ИЗВЕСТИЯ АКАДЕМИИ НАУК ГРУЗИНСКОЙ ССР

PROCEEDINGS OF THE ACADEMY OF SCIENCES

OF THE GEORGIAN SSR

ბიოლოგიის

სერია

СЕРИЯ

БИОЛОГИЧЕСКАЯ

1983 N2

თბილისი • ტომი  
• ТБИЛИСИ • ТОМ  
• TBILISI • VOL.

9

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 9, № 2  
Том

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

სარედაქციო კოლეგია:

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

ლ. გაბუნია, ს. ღურშიშიძე, მ. ზაალიშვილი, გ. თუმანიშვილი, გ. კანდელაკი,  
კ. ნადარეიშვილი, პ. ჯომეთიანი, ბ. უურაშვილი, ნ. ძიძიშვილი, თ. ჭანიშვილი,  
შ. ჭანიშვილი, ნ. ჭავჭავიშვილი

პასუხისმგებელი მდივანი ს. ლაბაძე

#### РЕДАКЦИОННАЯ КОЛЛЕГИЯ:

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

Л. К. Габуня, Н. А. Джавахишвили, Н. Н. Дзидзишвили, С. В. Дурмишидзе,  
М. М. Заалишвили, Г. В. Канделаки, 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. Bekaiia

Sh. F. Chanishvili, T. G. Chanishvili, N. A. Djavakhishvili, S. V. Durmishidze,  
N. N. Dzidzishvili, L. K. Gabunia, G. V. Kandelaki, 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, 1983

Технический редактор С. А. Куртанидзе  
Корректор Э. Е. Кобахидзе

Сдано в набор 13.12.82; Подписано к печати 14.03.83; Формат бумаги  
70×108<sup>1</sup>/<sub>16</sub>; Бумага № 1; Печатных л. 6,3; Уч.-издат. л. 5,9;  
УЭ 05079; Тираж 1000; Заказ 4051  
Цена 85 коп.

---

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

---

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



СОДЕРЖАНИЕ — შიგადაცხი — CONTENTS

17540

Г. Р. Давлианидзе, М. Л. Гугушвили, А. К. Кавтарадзе, В. М. Мосидзе. О свойствах каллозальных нейронов зрительной коры	77
გ. დავლიანიძე, მ. გუგუშვილი, ა. კავთარაძე, ვ. მოსიძე. მხედველობის ქერქის კალოზალური ნეირონების თვისებებზე	
G. R. Davlianiidze, M. L. Gugushvili, A. K. Kavtaradze, V. M. Mosidze. Peculiarities of callosal neurons in the visual cortex	
А. А. Унгиадзе. О взаимоотношении дорсального гиппокампа и поясной извилины	85
ა. უნგიადე. დორსალური ჰიპოკამპისა და სარტყელის ხეველის ურთიერთობის შესახებ	
A. A. Ungiadze. On the relationship between the dorsal hippocampus and cingulate gyrus	
З. М. Топурия. Морфометрический анализ возрастных изменений легких в постнатальном онтогенезе	91
ზ. თოფურია. ფილტვების ასაკობრივ ცვლილებათა მორფომეტრიული ანალიზი პოსტნატალურ ონტოგენეზში	
Z. M. Topuria. Morphometric analysis of the senile pulmonary changes in postnatal ontogenesis	
Н. И. Белоиваненко, Н. К. Тотибадзе. Прямые проекции промежуточного ядра мозжечка кошки на кору больших полушарий головного мозга	95
ნ. ბელოივანენკო, ნ. თოთიბაძე. კატის ნახევის შუამდებარე ბირთვის პირდაპირი პროექციები დიდი ტენის ქერქთან	
N. I. Beloivanenko, N. K. Totibadze. Direct projections of nucleus interpositus cerebelli to the cerebral cortex in cats	
В. Г. Чичуа, А. Н. Нижарадзе, П. Д. Ниорадзе, А. К. Церетели, Г. И. Квеситадзе. О перспективах использования микробных инвертаз в производстве безалкогольных напитков	99
ვ. ჩიჩუა, ა. ნიჯარაძე, პ. ნიორაძე, ა. წერეთელი, გ. კვესიტაძე. მიკრობული ინვერტაზის გამოყენების პერსპექტივები უალკოჰოლო სასმელების წარმოებაში	
V. G. Chichua, A. N. Nizharadze, P. D. Nioradze, A. K. Tsereteli, G. I. Kvesitadze. On the perspectives of microbial invertase application	
М. Г. Лебанидзе, М. Д. Гедеванишвили. О степени избирательности фармакологических эффектов акуаммина	105
მ. ლებანიძე, მ. გედევანიშვილი. აკუამინის ფარმაკოლოგიური ეფექტების სელექტიურობის შესახებ	
M. G. Lebanidze, M. E. Gedevanishvili. Selective pharmacological properties of akuammine	
Г. Е. Гваладзе. Формирование зародышевого мешка <i>Peperomia rezediflora</i> Linden et Andre	109
გ. გვალაძე. <i>Peperomia rezediflora</i> Linden et Andre-ს ჩანასახის პარკის ფორმირება	
G. E. Gvaladze. Formation process of embryo sac in <i>Peperomia rezediflora</i> Linden et Andre	
Г. Л. Енукидзе, Д. Г. Цкипуришвили, В. Н. Джихвашвили. Морфофизиологическая характеристика лесной мыши ( <i>Sylvimus sylvaticus</i> L.), распространенной в различных ландшафтах Грузии	115
გ. ენუქიძე, დ. ციკიფურიშვილი, ვ. ჯიხვაშვილი. საქართველოს სხვადასხვა ლანდშაფტებში გავრცელებული ტყის თაგვის ( <i>Sylvimus sylvaticus</i> ) მორფოფიზიოლოგიური დაბასიაობა	
G. P. Enukidze, D. G. Tskipurishvili, V. N. Jikhvashvili. The morpho-physiological characteristics of the wood mouse ( <i>Sylvimus sylvaticus</i> L.) in different landscapes of Georgia	

ქ. მარშენის სპ. სპ. სსრ  
სახელმწიფო რესპუბლ.

- М. А. Дарсавелидзе, Ж. С. Капанадзе, Т. Г. Чанишвили. Биологическая характеристика нового донорспецифического бактериофага . . . . . 120
- მ. დარსაველიძე, ჯ. კაპანაძე, თ. ჭანიშვილი. ახალი დონორსპეციფიკური ბაქტერიოფაგის ბიოლოგიური თვისებები
- М. А. Darsavelidze, Zh. S. Kapanadze, T. G. Chanishvili. Biological characterisation of the new donorspecific bacteriophage . . . . . 126
- О. В. Микаберидзе, С. А. Ригвава, И. А. Георгадзе, Т. Г. Чанишвили, Н. С. Гамреклидзе. Иммунологический метод быстрого выявления стафилококкового антигена . . . . . 132
- ო. მიკაბერიძე, ს. რიგვავა, ი. გეორგაძე, თ. ჭანიშვილი, ნ. გამრეკელიძე. სტაფილოკოკური ანტიგენის სწრაფი გამოვლენის იმუნოლოგიური მეთოდი
- О. V. Mikaberidze, S. A. Rigvava, I. A. Georgadze, T. G. Chanishvili, N. S. Gamreklidze. Immunological method of prompt revelation of staphylococci antigen . . . . . 138
- Г. Я. Дараселия, М. Коничкова-Родохова, И. Коничек. Сравнительное мутагенное действие N-нитрозо-N-метилмочевины и N-метил-N-нитро-N-нитрозогуанидина на *Mycobacterium phlei* штамма РА . . . . . 144
- გ. დარასელია, მ. კონიჩკოვა-რადოხოვა, ი. კონიჩეკი. N-ნიტროზო-N-მეთილმარდოვანისა და N-მეთილ-N-ნიტრო-N-ნიტროზო უანიდინის შედარებითი მუტაგენური მოქმედება *Mycobacterium phlei* შტამ PA-ზე
- G. Ja. Daraselia, M. Konichkova-Rodosova, J. Konicek. Comparative mutagenic effect of N-nitro-N-methylurea and N-methyl-N-nitro-N-nitrosoguanidine on *Mycobacterium phlei* strain PA . . . . . 144
- М. И. Табагуа, Л. А. Сибельдина. Исследование методом протонного магнитного резонанса титрования цианоферрицитохрома С . . . . . 144
- მ. ტაბაგუა, ლ. სიბელდინა. პროტონულ-მაგნიტური რეზონანსის მეთოდით ციანოფერრიციტოქრომ C-ს ტიტრირების გამოკვლევა
- M. I. Tabagua, L. A. Sibeldina. PMR investigation of titration of cyanoferricytochromes C . . . . . 144

**Хроника**  
**ქრონიკა**  
**Chronicle**

- Б. П. Готтих. Вторая Закавказская региональная школа по молекулярной биологии и молекулярной биофизике . . . . . 144
- ბ. გოტიხი. მოლეკულური ბიოფიზიკისა და მოლეკულური ბიოლოგიის ამიერკავკასიის მეორე რეგიონალური სკოლა



УДК 612.826.1

ФИЗИОЛОГИЯ ЧЕЛОВЕКА И ЖИВОТНЫХ

## О СВОЙСТВАХ КАЛЛОЗАЛЬНЫХ НЕЙРОНОВ ЗРИТЕЛЬНОЙ КОРЫ

Г. Р. Давлианидзе, М. Л. Гугушвили, А. К. Кавтарадзе,  
В. М. Мосидзе

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

Поступила в редакцию 14.05.1982

На кошках, наркотизированных нембуталом (35—40 мг/кг) и на ненаркотизированных животных, обездвиженных миорелаксантом, производилась идентификация и последующее исследование характеристик каллозальных нейронов зрительной коры, в частности средней части латеральной извилины. На основании полученных экспериментальных данных следует заключить, что каллозальные нейроны исследуемой области имеют низкую спонтанную активность (1/с) и отвечают на одиночное раздражение мозолистого тела, в основном, одним потенциалом действия. Эти нейроны характеризуются колончатим распределением в коре. Обнаружено, что каллозальные нейроны получают импульсацию и из специфического передаточного ядра — латерального колленчатого тела. Исходя из этого, можно полагать, что каллозальные нейроны передают в контралатеральное полушарие воспринимаемую из латерального колленчатого тела импульсацию. Кроме того, обсуждается вопрос об участии каллозальных нейронов в обработке информации, поступающей по специфическим таламокорковым путям в зрительную кору контралатерального полушария.

Исследование закономерностей межполушарных взаимоотношений [2, 17, 20] непосредственно связано с изучением структурных и функциональных особенностей каллозальных нейронов. Каллозальными или комиссуральными являются ассоциативные клетки, отдающие контралатеральным гомо- и гетеротопическим областям свои аксоны. Именно эти аксоны и составляют основную массу мозолистого тела (МТ), хотя через эту структуру проходят коллатерали некоторых проекционных и ассоциативных нейронов [11, 16].

В литературе нет единого мнения о локализации каллозальных нейронов. Согласно одним данным, эти нейроны находятся в глубоких — V—VI слоях коры [16], тогда как другие указывают, что слои II—VI содержат клетки, дающие начало каллозальной системе [6]. Относительно зрительной системы кошек морфологическими [13] и электрофизиологическими

[23] исследованиями установлено, что каллозальные клетки локализованы в основном в III—IV слоях и что эти слои являются местом возникновения и окончания комиссуральных волокон [8]. По форме каллозальные нейроны представляют собой короткие пирамидные нейроны [16], хотя по другим данным каллозальные волокна отходят от малых и средних пирамид [19]. Однако в недавнем морфофизиологическом исследовании [12], проведенном на кошках с применением пероксидазы хрена, показано, что каллозальные клетки зрительной коры представляют в основном пирамидные или модифицированные пирамидные («кисточковые» и «треугольные» по Cajal) и звездчатые клетки, локализованные в верхней части слоя IV. Следует отметить, что каллозальные клетки неравномерно распределены по всей зрительной коре. Имеются морфологические и электрофизиологические данные [7] в

пользу того, что большая часть каллозальных нейронов или «каллозальная зона» зрительной коры расположена на границе между полями 17—18.

Более того, установлено, что преимущественно в вышеуказанной области оканчиваются каллозальные афференты противоположной зрительной коры [5, 8]. Эти области являются корковым представителем вертикального меридиана зрительного поля [10].

#### МЕТОДИКА

Опыты проводились на наркотизированных нембуталом (35—40 мг/кг) и на ненаркотизированных животных, обездвиженных миорелаксантом. На обездвиженных животных операция производилась под эфирным наркозом. Эксперименты начинались через 1,5—2 ч после прекращения подачи эфира. Раздражение МТ и ЛКТ производилось прямоугольными импульсами продолжительностью 0,1—0,3 мс посредством константных электродов (межэлектродное расстояние 1 мм). Электроды вживлялись стереотаксически в МТ, в частности ее спле-

Микроэлектрофизиологические исследования каллозальных нейронов проведены в основном на нейронах сенсорной коры кроликов [3, 4]. Немногочисленные работы по изучению каллозальных нейронов зрительной коры дают неполное представление о свойствах этих клеток.

Целью настоящей работы являлась идентификация, а затем последующее определение характерных свойств каллозального нейрона.

ниальную часть (А-4, L-10, Н-7), и ЛКТ (А-7, L-10, Н-3) по атласу Джаспера и Аймонэ-Марсана [14]. Индифферентный электрод помещался на лобной кости черепа. Импульсная активность отводилась стеклянными микроэлектродами, заполненными 1,5 М раствором 3-замещенного цитрата натрия. Регистрация нейронов производилась из средней части латеральной извилины после установления фокуса максимальной активности вызванных ответов на прямое электрическое раздражение МТ.

#### РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

Из исследованных 165 нейронов средней части латеральной извилины 22 были идентифицированы как каллозальные, так как на раздражение МТ отвечали антидромным потенциалом действия (ПД). Критериями для опознавания антидромной активности служили величина и малая вариабельность латентного периода, стабильность ответа и максимальная частота раздражения, воспроизводимая нейроном [3, 21]. На рис. 1 представлены антидромные ПД каллозального нейрона со скрытым периодом 9 мс. Нейрон отвечает на каждое из двух раздражений при межстимульных интервалах от 8 до 2,5 мс (рис. 1,2—7). При уменьшении межстимульного интервала до 2 мс (рис. 1,8) второй ответ не регистрировался при парных раздражениях. Следовательно, рефрактерность аксона данного каллозального нейрона равняется 2 мс. Следует отметить, что при парных раздражениях латентный период второго ответа претерпевает изменения.

В частности, при межстимульных интервалах 8, 7, 6, 5 мс (рис. 1,2—5) латентный период уменьшается, тогда как при интервалах 4 и 2,5 мс достигает начального уровня (рис. 1,6—7). Подобное изменение латентного периода второго ответа при парных раздражениях МТ наблюдалось при регистрации каллозальных нейронов, отвечающих относительно длительным латентным периодом, тогда как при малых латентностях все исследуемые нейроны показывали стабильные латентные периоды второго ответа. На рис. 2А,1 представлены ПД каллозального нейрона с коротким латентным периодом (2 мс) в ответ на антидромное раздражение МТ. Парные раздражения, поданные с различными межстимульными интервалами, показывают, что нейрон воспринимает частоту в пределах 400/с. При межстимульных интервалах менее 2,5 мс (рис. 2А, 7—8) второй ответ не регистрировался. Латентные периоды ПД данного нейрона в ответ на второй

стимул при парных раздражениях МТ не претерпевали изменения (рис. 2А). Часто, наряду с каллозальными, регистрировались нейроны, активируемые на раздражение МТ моносинаптически. ПД такого нейрона представле-

Идентифицированные каллозальные нейроны характеризовались низкой спонтанной активностью (1—3 имп/с), а при нембуталовом наркозе у всех исследуемых нейронов отсутствовала фоновая активность. В наших экспе-

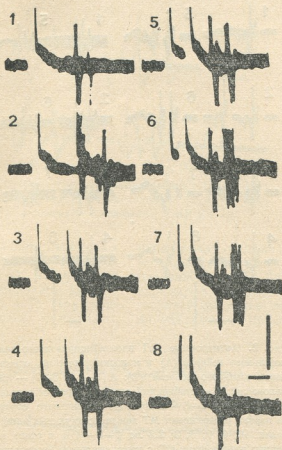


Рис. 1. Ответы идентифицированного каллозального нейрона: 1—8 — пять наложений; 1 — стабильный ответ со скрытым периодом 9 мс; 2—8 — ответы на парные стимулы с интервалом 8; 7; 6; 5; 4; 2,5 и 2 мс. Калибровка — 1 мВ и 4 мс

ны на рис. 2Б, 1 — латентный период 6 мс. При парных раздражениях с межстимульным интервалом 10,8 и 6 мс (рис. 2Б, 2—4) нейрон реагировал на каждое из двух раздражений. При дальнейшем уменьшении интервала между стимулами (6,5 и 4 мс) в ответ на парные раздражения МТ регистрировался один потенциал действия (рис. 2Б, 5—7). Короткий латентный период и относительно низкая частота (100—150/с), воспроизводимая нейроном при парных раздражениях, указывает, что данный нейрон включается моносинаптически [3].

риментах часто регистрировались 2, а иногда — 3 каллозальных нейрона в одном треке. Это подтверждает данные литературы о распределении каллозальных клеток в виде колонок [9]. Обычно в ответ на антидромное раздражение МТ отводились отдельные ПД каллозальных нейронов. Однако, в ряде случаев на раздражение МТ удалось зарегистрировать 2 ПД (рис. 3, 1—3). Первый потенциал — это антидромный ответ каллозального нейрона, так как он был стабилен и регистрировался при высоких частотах раздражения (400/с). Второй ПД, по

всей вероятности, является моносинаптическим ответом данного каллозального нейрона. В пользу такого предположения свидетельствуют малая

ронов на периферические раздражения или стимуляцию специфических таламических ядер не изучена, нами после идентификации исследовалась

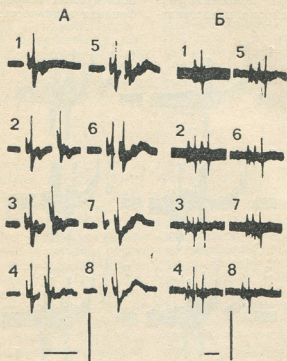


Рис. 2. Антидромные ПД идентифицированного каллозального нейрона (А) и моносинаптические ответы некаллозального нейрона (Б): А (1—3 и 5—7) — три наложения; Г — стабильный ответ на одиночное раздражение МТ, 2—6 — сохранение стабильного ответа на парные раздражения МТ при межстимульных интервалах 10; 6; 7; 5; 3; 2,5 мс; 7—8 — ПД в ответ на парные раздражения МТ с межстимульным интервалом 2,3 и 2 мс. Б (1, 2, 7) — три наложения; 1—8 — одиночный ответ на стимуляцию МТ, 2 — ПД при парных раздражениях с межстимульным интервалом 10; 8 и 6,6; 6,5 и 4 м. Калибровка: 1 мВ, 10 мс

величина и незначительная вариабельность латентного периода этого ПД.

Кроме того, большой интерес представляет регистрация одновременно с каллозальным нейроном электрической активности некаллозального нейрона, отвечающего высокочастотными разрядами в ответ на одиночные раздражения МТ (рис. 3,4). Нейроны с такой активностью описаны и ранее в ответ на раздражение контралатеральной области коры [15]. По всей вероятности, это вставочный нейрон, который может возбуждаться ортодромно при раздражении МТ.

Так как реакция каллозальных ней-

реакция этих нейронов на раздражение ЛКТ. Оказалось, что некоторые каллозальные нейроны реагируют на раздражение ЛКТ. На рис. 4 представлены ответы 4 каллозальных нейронов на одиночное раздражение МТ разной латентностью — 5 мс; 1,5 мс; 2 мс и 8 мс соответственно (рис. 4; 1, 4, 7, 10) и воспроизводившие высокую частоту раздражения МТ; при предъявлении парных стимулов с интервалом 4 мс нейроны отвечали ПД на каждое из двух раздражений (рис. 4; 2, 5, 8, 11). На одиночное раздражение ЛКТ первый нейрон не реагировал (рис. 4,3), тогда как остальные



отвечали ПД с разным скрытым периодом — 6,4; 10 и 11 мс соответственно (рис. 4; 6, 9, 12). Большая часть зарегистрированных нейронов (некаллозальных) зрительной коры отвечала как на раздражение МТ, так и

и поступающих по специфическим путям импульсаций.

Исходя из полученных нами экспериментальных данных следует полагать, что каллозальные нейроны зрительной коры, регистрируемые на гра-

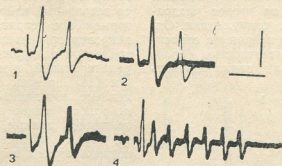


Рис. 3. Антидромные и различные моносинаптические ответы нейронов при стимуляции МТ (2, 3, 4 — 3 наложения). Калибровка: 1 мВ и 4 мс

ЛКТ. На рис. 5 показаны ответы 3-х нейронов на электрическое раздражение МТ (рис. 5; 1, 2, 3). Эти нейроны отвечали ПД и на одиночные раздражения ЛКТ (рис. 5; 5, 6, 7). При определенных межстимульных интервалах,

ниже между полями 17 и 18, отвечают одним разрядом на антидромное раздражение МТ. Латентные периоды варьируют в пределах I—II мс. Такой широкий диапазон латентного периода объясняется проведением возбуж-

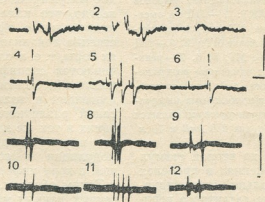


Рис. 4. Реакции идентифицированных каллозальных нейронов на раздражение ЛКТ: 1, 4, 7 и 10 — ПД на одиночные раздражения МТ; 2, 5, 8, 11 — ПД в ответ на парное раздражение МТ с межстимульным интервалом 4 мс; 3, 6, 9, 12 — ПД тех же нейронов на одиночные раздражения ЛКТ. Калибровка: 1 мВ и 4 мс

когда кондиционирующим являлось раздражение МТ, а тестирующим — ЛКТ, было обнаружено облегчение ответов на второе раздражение (рис. 5; 4, 8). Вышесказанное указывает, что на нейронах зрительной коры происходит взаимодействие каллозальных

денция по каллозальным аксонам разного диаметра. Известно, что диаметр самых крупнокалиберных каллозальных волокон равняется 4—6,9 мк, а самых тонких — 0,3 мк [17]. Большинство каллозальных нейронов представляют тонкие, немиелизированные

волокна диаметром 1—2 мк. Кроме того, установлено, что латентный период антидромно регистрируемых ответов стабилен. Следует отметить, что ответы каллозальных нейронов с коротким латентным периодом были стабильны и не показывали изменения скрытого периода на второе раздражение при парных стимуляциях. Однако каллозальные нейроны с относительно длинной латентностью (более чем 5 мс) показали вариабельность

тической активации данного каллозального нейрона. Кроме того, одним электродом на одиночное раздражение МТ, наряду с ПД каллозального нейрона, отводились высокочастотные разряды другого нейрона. Мы предполагаем, что в этом случае регистрируется вставочный нейрон. Возможно, что торможение спонтанной активности нейронов зрительной коры при электрическом раздражении МТ или контралатеральной гомотопической области [15], по всей вероятности, обусловлено активацией этих вставочных нейронов. Однако в настоящее время появились данные, указывающие на то, что тормозящее влияние может осуществляться и моносинаптическим транскаллозальным путем [1].

Большая часть регистрируемых из исследуемой области нейронов отвечает как на раздражение МТ, так и ЛКТ. Среди них следует выделить идентифицированные каллозальные нейроны, которые активировались синнаптически и отвечали ПД в ответ на раздражение ЛКТ. Исходя из этого, следует полагать, что каллозальные нейроны воспринимают импульсацию из ЛКТ и передают в контралатеральное полушарие. С другой стороны, известно, что каллозальные нейроны и каллозальные афференты преимущественно локализованы в III и IV слоях коры, т. е. в слоях, в которых оканчиваются специфические таламокорковые афферентные пути [13]. Конвергенция и взаимодействие импульсий различного происхождения на одних и тех же элементах коры должны иметь определенное значение в модуляции и обработке поступающей в кору информации.

Таким образом, на основании полученных данных можно заключить, что каллозальные нейроны зрительной коры имеют низкую спонтанную активность и отвечают на одиночные раздражения одним спайком. Они характеризуются колончатим распределением в коре. Установлено, что каллозальные нейроны синнаптически воспринимают импульсацию из специфического передаточного ядра ЛКТ и передают в противоположное полушарие. Кроме того, конвергенция импульсаций из МТ и ЛКТ на нейронах зрительной коры указывает, что каллозальные нейроны участвуют в обработке информации, поступающей по

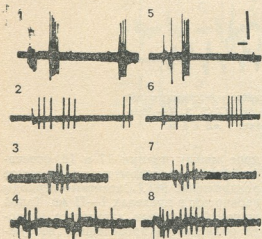


Рис. 5. Реакции трех некаллозальных нейронов на раздражение МТ и ЛКТ: 1 — ПД на высокочастотное раздражение МТ (нейрон не отвечает на одиночное раздражение МТ); 2, 3 — ПД на одиночное раздражение МТ; 5, 6, 7 — реакция тех же нейронов на одиночные раздражения ЛКТ; 4—8 — реакция нейрона 3 на раздражение МТ и ЛКТ межстимульными интервалами 50 и 20 мс; кондиционирующим является раздражение МТ. Калибровка 250 мкВ и 10 м

латентного периода на второй стимул при парных раздражениях в пределах более чем 20% начальной интенсивности. Такое изменение латентного периода было обнаружено ранее на каллозальных нейронах зрительной коры [22] и объясняется повышением проводимости волокон в результате следового потенциала, возникающего после активации аксона каллозального нейрона первым стимулом.

В наших экспериментах зарегистрированы 2 ПД каллозального нейрона в ответ на антидромное раздражение МТ. Один — антидромный ответ с коротким латентным периодом и второй — сравнительно большей латентностью. Этот второй, как указывалось выше, является следствием моносинап-



специфическим таламокорковым путям в зрительную кору контралатерального полушария. Обнаружены вставочные нейроны, активируемые при раздражении МТ. Предполагает-

ся, что их активацией обусловлено, в крайней мере частично, торможение нейронов зрительной коры, описанное при раздражении МТ.

ЛИТЕРАТУРА

1. Мамонцев Т. М. Нейрофизиология, 13, 133—141, 1981.
2. Мосидзе В. М., Рижинашвили Р. С., Кеванишвили З. Ш., Акбардия К. К. В кн.: Современные проблемы деятельности и строения ЦНС, Тбилиси, «Мецნიერება», 3, 1972, 143—158.
3. Эзрохи В. Л., Гречушников Л. С. Жур. высш. нервн. деят., 28, 1271—1279, 1978.
4. Эзрохи В. Л., Шаронова И. Н. Ж. высш. нервн. деят., 27, 600—608, 1977.
5. Berlucchi G Brain Res., 37, 371—392, 1972
6. Chang M T J. Neurophysiol., 16, 133—144, 1953
7. Choudhury B F, Whitteridge D., Wilson M. E. Quart. J. Exp. Physiol., 50, 214—219, 1965
8. Ebner F F., Myers R E. J. comp. Neurol., 114, 353—366, 1965
9. Goldman P S, W J H Nauta. Brain Res., 122, 393—413, 1977.
10. Hubel D, Wiesel T. J. Neurophysiol., 30, 1561—1573, 1967.
11. Jacobson S. J. Comp. Neurol., 124, 131—146, 1965
12. Innocenti G. M. Arch. Ital. Biol., 118, 124—183, 1980.
13. Innocenti G. M., Fiore L. Neuroscience Letters, 2, 245—252, 1976.
14. Jasper M., Ajmon-Marsan C. A. Stereotaxic atlas of diencephalon of cat, Ottawa Nat. Res., Council of Canada, 1954.
15. Latimer C., Kennedy T. J. Neurophysiol., 24, 66—79, 1961.
16. Lorente de No R. In: Physiology of the Nervous System, 1943, 288
17. Myers R E Brain, 79, 258—363, 1956.
18. Naito H., Miykawa F, Ito M. Brain Res., 27, 369—372, 1971
19. Shoumura K. Brain Res., 67, 13—25, 1974.
20. Sperry R. W. Science, 113, 13—22, 1961.
21. Swadlow H. A. Exp. Neurol., 43, 424—444, 1974.
22. Swadlow H. A. Exp. Neurol., 43, 445—451, 1974.
23. Toyama K., Matsumoto T. Brain Res., 14, 513—514, 1969

მხედველობის ძირის კალოზალური ნეირონების თავისებურებანი

ზ. დავლიანიძე, მ. ვაზუშვილი, ა. ჯამთარაძე, ვ. მოსიძე

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

რ ე ზ ი უ მ ე

ნემბუტალით დანარკოზებულ (37—40 მგ/კგ) და დაუნარკოზებულ, მიორელაქსანტით გაუმძძრავებელ კატებზე ჩატარებულ იქნა მხედველობის ქერქის, კერძოდ, ლატერალური ხვეულის შუა ნაწილის კალოზალური ნეირონების იდენტიფიკაცია და ამ ნეირონების მასასიათებლების შემდგომი კვლევა. მიღებული ექსპერიმენტული მასალის საფუძველზე შეი-

ძლება დავასკვნათ, რომ მოცემული უბნის კალოზალურ ნეირონებს ახასიათებთ დაბალი სპონტანური აქტივობა (1/სეკ) და რომ ისინი ერთხელობრივ გაღიზიანებას, ძირითადად, 1 მოკმედების პოტენციულით უპასუხებენ. კალოზალურ ნეირონებს ახასიათებთ სვეტისებური ვანლაგება ქერქში. დადგენილ იქნა, რომ მხედველობის ქერქის კალოზალური ნეირო-

ნები იმპულსებს მიმღებლობენ სპეციფიკური გადამრთავი ბირთვიდან — ლატერალური დამუხლული სხეულიდან. უნდა ვივარაუდოთ, რომ კალოზალური ნეირონები სპეციფიკური გზებით მოსულ იმპულსებს კონტრალატერალურ ჰემისფე-

როს გადასცემენ. გამოთქმულია მოსაზრება, რომ კალოზალური ნეირონები ნაწილობენ სპეციფიკური თალამო-კორტიკალური გზებით კონტრალატერალური ნახევარსფეროს ქერქში მოსული ინფორმაციის დამუშავებაში.

## PECULIARITIES OF CALLOSAL NEURONS IN THE VISUAL CORTEX

G. R. DAVLIANIDZE, M. L. GUGUSHVILI, A. K. KAVTARADZE, V. M. MOSIDZE

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

### Summary

Callosal neurons in the middle part of the lateral gyrus were identified and characterized in the cats anaesthetized with nembutal (36—40 mg/kg) or immobilized by myorelaxants. They appeared to have low spontaneous activity (I/sec) and respond to a single callosal stimulation with one action potential. These cells have columnar distribution and receive

reactive impulsation from specific cellular nucleus—GL. It may be suggested that callosal neurons send the impulsation accepted from GL to the contralateral hemisphere. The role of callosal neurons in the processing of information arriving via specific thalamocortical pathways is also discussed.



УДК 612.823.2

ФИЗИОЛОГИЯ ЧЕЛОВЕКА И ЖИВОТНЫХ

## О ВЗАИМООТНОШЕНИИ ДОРСАЛЬНОГО ГИППОКАМПА И ПОЯСНОЙ ИЗВИЛИНЫ

А. А. Унгиадае

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

Поступила в редакцию 22.09.1982

Изучены ответы передней поясной извилины на стимуляцию дорсального гиппокампа и вызванные раздражением передней поясной извилины ответы дорсального гиппокампа у кошки. Высказывается предположение об участии в генезе ответов этих структур двусторонних коротких, по всей видимости, моносинаптических нервных путей.

Лимбическая цингулярная кора или поясная извилина является звеном в системе структур лимбического мозга и рассматривается как высший неокортикальный отдел лимбической системы, конечный адресат информации, формирующейся в результате последовательного включения структур этой системы. Этому положению в иерархии лимбических структур она обязана сложности своей архитектоники, клеточному составу и обширным связям с неокортикальными и подкорковыми образованиями. Выяснению функционального значения ее связей с другими структурами мозга, в том числе с гиппокампом, придается особое значение, ибо по клиническим данным, полученным на людях после цингулоэктомии [25], и по опытам на животных эти структуры имеют важное значение в регуляции вегетативных и соматических ответов при эмоциональных реакциях организма [1, 22]. Наличие связей между поясной

извилиной и гиппокампом не вызывает сомнений [4, 6, 17, 29, 31], однако начало и холология цингулярных проекций и взаимоотношения поясной извилины со структурами лимбического мозга пока еще четко не установлены.

Ряд авторов отмечает, что фориальная извилина неотделима от аммонова рога [21]; предполагалось существование прямых связей с гиппокампом [13, 17, 23]. Однако более поздние работы внесли сомнения в наличие прямых связей поясной извилины с гиппокампом [7, 20, 30, 34]. При повреждении поясной извилины, по этим данным, дегенерация нервных волокон в гиппокампе и зубчатой фассии не прослеживается.

В настоящем сообщении представлены результаты электрофизиологического изучения взаимоотношений между передней поясной извилиной и дорсальным гиппокампом.

### МЕТОДИКА

Опыты ставились на бодрствующих ненаркотизированных кошках, с живленными в мозговые структуры электродами. Константановые электроды, с диаметром неизолированного кончика 150—200 мкм, стереотаксически

вживлялись в переднюю и заднюю поясную извилину и дорсальный гиппокамп по координатам атласа Джаспера и Аймонэ-Марсана [26]. Отведения — монополярными, раздражения — биполярными электродами

(прямоугольными импульсами 0,2 мс) от генератора с высокочастотным выходом. Регистрация — двухлучевым катодным осциллографом фирмы «Ди-

за электроник». Локализация электродов верифицировалась на фронтальных срезах мозга животных.

## РЕЗУЛЬТАТЫ

При одиночных электрических раздражениях дорсального гиппокампа ( $A_2L_9H_5^+$ ) в передней поясной извилине (поле 24) возникают хорошо выраженные потенциалы, конфигурация которых меняется в зависимости от интенсивности стимула. Порог вызова

тельным потенциалом (рис. 1,5). Этот ответ стабилен и возникает с короткой латентностью, равной 1,5—2 мс (рис. 2,2). При парных электрических

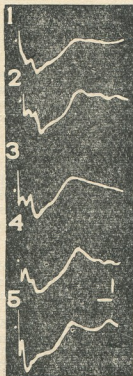


Рис. 1. Вызванные ответы передней поясной извилины на раздражение дорсального гиппокампа: 1 — стимуляция 0,5 В; 2 — 1 В; 3 — 3 В; 4 — 5 В; 5 — 6 В. Калибровки: амплитуды — на всех рисунках — 200 мкВ; времени — 5 мс

ответа в поле 24 довольно низок — 0,5 В. При усилении раздражения (рис. 1, 2-3) несколько углубляется начальное электроположительное отклонение и следующий за ним компонент. При еще большем усилении стимула передний отдел поясной извилины отвечает положительно-отрица-

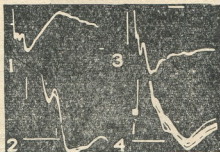


Рис. 2. Ответы передней поясной извилины на раздражение дорсального гиппокампа (1, 2) и ответы дорсального гиппокампа на раздражение поля 24 (3, 4). Калибровка времени — 5 мс

раздражения с различными межимпульсными интервалами в передней поясной извилине регистрируются стабильные потенциалы, не претерпевающие изменений в амплитуде и конфигурации при изменении интервала между стимулами (рис. 3А).

Наибольшая амплитуда вызванного потенциала в передней поясной извилине, наименьший порог для его вызова и малая латентность, стабильность при низкочастотных и парных электрических раздражениях говорят о том, что эти ответы, по всей видимости, возникают в результате активации короткого, вероятно, моносинаптического нейронного пути. Это предположение было нами высказано и ранее [8—10]. Однако наличие этого пути не исключает возможности существования и полисинаптических связей между этими структурами [18, 32, 36].

При одиночном электрическом раздражении передней поясной извилины, в свою очередь, в дорсальном гиппокампе возникает стабильное положительно-отрицательное отклонение потенциала, конфигурация которого меняется при увеличении интенсивности стимула (рис. 4): возникают до-

полнительные положительно-отрицательные колебания (рис. 4, 6-7).

Вызванные потенциалы дорсального гиппокампа на раздражение поля 24 аналогичны ответам передней поясной извилины на стимуляцию дорсального гиппокампа. Скрытый период вызванного потенциала дорсального гиппокампа небольшой, характер-

ный для моносинаптического ответа 1,5—2 мс (рис. 2,4). При низкочастотных и при парных электрических стимулах с различными межимпульсными интервалами конфигурации ответов постоянны, хотя при сближении интервала между импульсами, его амплитуда несколько снижается (рис. 3Б).

### ОБСУЖДЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ

К цингулярной коре или поясной извилине относится основная часть лимбической коры, лежащая над мозолистым телом на медиальной стенке полушария. Характерные цитоархитектонические критерии поясной извилины явились основанием ее деления на два отдела: агранулярный (передний, поле 24 по Бродману) и гранулярный

афферентных связей, идущих от передних таламических ядер [30, 32].

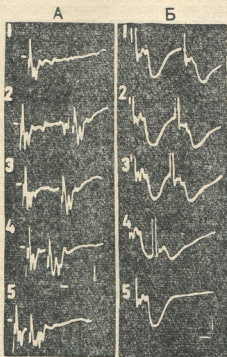


Рис. 3. Ответы передней поясной извилины и дорсального гиппокампа на парные раздражения с различным межимпульсным интервалом. Время — 5 мс

(задний) отделы. Эти отделы представляют собой популяции нейронов, варьирующих по своим размерам и отличным по связям и структурным характеристикам [4, 17, 32]. Такому делению соответствует и различие в

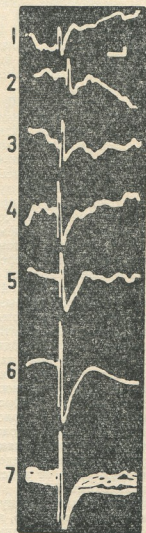


Рис. 4. Вызванные ответы дорсального гиппокампа на стимуляцию передней поясной извилины: 1 — 0,5 В; 2 — 1 В; 3 — 2 В; 4 — 3 В; 5 — 4 В; 6 — 5 В; 7 — 7 В. Калибровка времени — 20 мс



Функциональная роль поясной извилины до настоящего времени четко не установлена. В ряде работ отмечается, что функция поясной извилины не ограничивается ее участием в проявлении вегетативных ответов. Ростральная часть признана мощным тормозным центром: при ее стимуляции наблюдается расслабление мышечного тонуса, угнетение соматических движений, условных и безусловных рефлексов, деятельности дыхательной, сердечно-сосудистой и ряда других висцеральных систем. Известна роль поясной извилины в проявлении вегетативных и соматических компонентов в эмоциональных реакциях страха, ярости, агрессии [1—3, 5, 12, 23]. Исходя из всего сказанного, понятно, почему привлекают к себе внимание связи поясной извилины с эмоциогенными структурами мозга.

В предыдущих работах [10, 11] нами было высказано предположение, что в генезе цингулярной активности, вызванной электрической стимуляцией гиппокампа, должны принимать участие как короткий (по всей видимости моносинаптический) путь, так и полисинаптические пути, пролегающие через передние таламические ядра. Приведенные в настоящем исследовании данные говорят о том, что в ответ на раздражение дорсального гиппокампа в поле 24 поясной извилины возникают ответы высокой амплитуды. При этом порог их вызова низок и скрытый период их возникновения очень мал. Стабильные ответы регистрировались как при одиночных раздражениях, так и при парных и низкочастотных стимулах (рис. 1, 2, 4). Все это со всей очевидностью говорит о том, что между дорсальным гиппокампом и полем 24 поясной извилины имеется тесная, вероятно, моносинаптическая нервная связь.

Как осуществляется проведение импульсов возбуждения от поясной извилины к гиппокампу?

Ряд авторов считает поясную связку если не единственным, то, по крайней мере, возможным нервным проводником импульсов от поясной извилины к гиппокампу. Согласно Бивору [16] поясная связка включает проводники различного происхождения. Эта связка была описана Кахалем в 1890 году. Исходя из собственных данных, Кахаль [17] выдвинул

положение, согласно которому, помимо коротких волокон, поясная связка содержит и длинные волокна, простирающиеся по всей ее длине. Рядом исследований было подтверждено наличие связей от передней и задней лимбической коры, прослеживающихся до пресубикулула, субикулула и самого гиппокампа. В поясной извилине начинается пучок волокон (лимбико-гиппокампальный пучок), который прорывает мозолистое тело, переходит в фимбрию и вместе с ее волокнами достигает аммонова рога [13, 15, 17, 21, 27]. Келликером [27] поясная связка была представлена в виде стреловидной супракаллозальной связки, которая дает перфорирующие волокна, идущие к своду. Однако позднее было поставлено под сомнение наличие прямых нервных связей к гиппокампу. Было выдвинуто предположение, что поясная извилина проектируется к гиппокампу путем нескольких коротколатентных переключений или путем хотя бы одного переключающего синапса в энторинальной коре, парасубикулуле или субикулуле [7, 20, 30, 35].

Данные, полученные нами с одиночными и парными стимулами поля 24, говорят о том, что в дорсальном гиппокампе возникают стабильные ответы высокой амплитуды. Порог вызова ответов низкий, а латентность — короткая (рис. 3, 4Б). Это говорит о том, что вызов ответов дорсального гиппокампа на стимулы передней поясной извилины осуществляется, по всей видимости, коротким нервным путем.

Имеются данные, показывающие, что проведение из поясной извилины через поясной пучок может не быть решающим или вовсе отсутствует [33]. Эффекты в гиппокампе могут возникать импульсами, обходящими поясную связку, возможно, через форникально-гиппокампальную связь, описанную Грином и Ардуни [24] и Датцем и Поуэллом [19]. В пользу этого говорят результаты опытов с перерезкой поясной извилины и сохранением гиппокампальных ответов. Кроме того, было показано, что после полного удаления энторинальной коры — основного кортикального входа в гиппокамп, медленные волны ответа гиппокампа продолжают возникать на стимулы, вызывающие «настороженность» животного [14]. В этих опытах





ა. უნგიადე

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

რ ე ზ ი უ მ ე

კატეზში, ქრონიკული ცდების პირო-  
ბებში, შესწავლილ იქნა დორსალური ჰი-  
პოკამპისა და სარტყელის ხვეულის ურ-  
თიერთობა. აღმოჩნდა, რომ ამ სტრუქტუ-  
რებს შორის არის არა მარტო საყოველ-

თაოდ ცნობილი პოლისინაფსური კავში-  
რები, არამედ მოკლე, ალბათ მონოსინა-  
ფსური, კავშირებიც. ასეთი მოკლე კავ-  
შირებია სარტყელის ხვეულის წინა მონა-  
კვეთსა და დორსალურ ჰიპოკამპს შორის.

## ON THE RELATIONSHIP BETWEEN THE DORSAL HIPPOCAMPUS AND CINGULATE GYRUS

A. A. UNGIADZE

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

### Summary

The relationships of the dorsal hip-  
pocampus and cingulate gyrus were stu-  
died in adult cats with chronically im-  
planted electrodes. Data are obtained in-  
dicating that apart from the known po-

lysynaptic neural projections, the direct  
bilateral connections are involved in the  
genesis of the cingulate and hippocamp-  
al responses.

УДК 616.24—053—07

МОРФОЛОГИЯ

## МОРФОМЕТРИЧЕСКИЙ АНАЛИЗ ВОЗРАСТНЫХ ИЗМЕНЕНИЙ ЛЕГКИХ В ПОСТНАТАЛЬНОМ ОНТОГЕНЕЗЕ

З. М. Топурия

*Тбилисский государственный медицинский институт*

Поступила в редакцию 10.11.1982

Применен апробированный морфометрический метод изучения структур легких в онтогенезе на белых беспородных крысах. Выявлено, что старческое увеличение объема и воздушности легкого зависит в значительной степени от расширения его транзитной зоны. Показано, что несмотря на уменьшение количества альвеол в легких старых крыс, дыхательная поверхность мало изменяется за счет расширения эффективной площади барьера воздух—кровь.

Отмеченное увеличение всей площади альвеолярной поверхности содержит в себе характерные особенности старения легких и возникает как результат фиброза волокнистой соединительной ткани структуры межальвеолярных перегородок.

Данные гистометрии свидетельствуют о постоянно совершающейся нивелировке параметров в течение всей жизни животного.

Использованный метод является доступным и целесообразным для дальнейшего изучения закономерностей старения.

Практическая и экспериментальная медицина сегодня занимается многими проблемами, основываясь на математическом подходе [1, 2, 3, 4, 5, 6]. Количественный анализ структурной перестройки при этом делает возможным построение системы доказательств функциональных и морфоло-

гических изменений в тканях и органах.

В настоящей работе метод математического исследования применен для оценки изменения легочных структур в постнатальном онтогенезе и старости.

### МАТЕРИАЛ И МЕТОДИКА

Материалом послужили легкие 400 белых беспородных крыс, взятые на всех этапах физиологического развития — от рождения животных до старости. Подготовка к исследованиям состоит из определения объема нефиксированного и фиксированного легкого, гистологической обработки ткани, а также фотографирования окрашенных гистологических препаратов.

Гистометрический анализ структур легкого заключается в выявлении точного количества альвеол с учетом их диаметров и в определении площади, занимаемой указанными альвеолами

на х-фотопластинках. Полученные данные являются необходимым материалом для подсчета суммы площадей альвеол — *Сал* и суммарного количества альвеол — *Кал*. Изучение общей площади альвеолярной поверхности и количества альвеол в целом легком требует проведения ряда исследований. Необходимо:

1. Определить «среднюю площадь поперечного сечения» альвеолы ( $\bar{s}$ ), полученной при случайном ее пересечении в любом направлении по фор-

$$\text{муле } \bar{s} = \frac{\text{Сал}}{\text{Кал}}$$

2. Выявить количество ( $n$ ) альвеол на  $\text{мм}^2$  гистологического среза по формуле  $n = \frac{\text{Кал}}{\text{Spх}}$ , где  $\text{Spх}$ —площадь сечения ткани легкого, отснятой на  $x$ -фотопластинках.

3. Объем альвеолы ( $\text{Val}$ ) находим по формуле  $\text{Val} = \beta \cdot \bar{s}^{2/3}$ , где  $\beta$ —безразмерный коэффициент, зависящий от конфигурации и принимаемый для альвеол за 1,55. Для получения «ис-

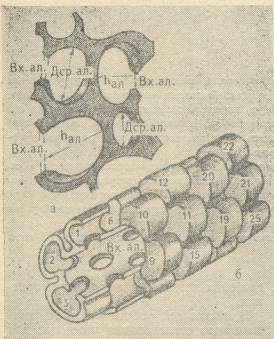


Рис. 1. Схематическое изображение математического аналога альвеолярного хода в ацинусе: а — аналог структуры альвеол на гистологическом срезе; б — альвеолярный хол. Обозначения: альвеола —  $\text{Al}_{1,2,3 \dots 25}$ ; диаметр альвеолы —  $\text{Дср. ал.}$ ; глубина альвеолы —  $h_{\text{ал}}$ ; усеченность входа альвеолы —  $\text{Вх. ал.}$

тинного» объема альвеолы легкого ( $\text{Val}'$ ,  $\text{Val}''$ ) типичной группы животных используем следующие формулы:

а)  $\text{Val}' = \pi h \left( R - \frac{1}{3} h \right)$ , где  $h$  составляет глубину альвеолы (на рис. 1 а глубина альвеолы обозначена:  $h_{\text{ал}}$ );

б)  $\text{Val}'' = \frac{4}{3} \pi R^3 \frac{5}{6}$ , когда объем истинной альвеолы —  $5/6$  сферы. При этом альвеола имеет усеченную по-

верхность на уровне альвеолярного хода (на рис. 1 а и б усеченная поверхность альвеолы обозначена  $\text{Вх. ал.}$ ).

4. Показать диаметр средней альвеолы можно по формуле:  $\text{Дср. ал} = \sqrt[3]{\frac{\text{Val} \cdot 6}{\pi}}$ .

5. Определение волюметрической фракции ( $\rho$ ) альвеол в гистологических срезах легкого возможно по формуле:  $\rho_{\text{ал}} = \frac{n \cdot \bar{s}}{\text{Sp}}$ .

6. Для обнаружения количества альвеол ( $\text{Nал}$ ) в  $\text{мм}^3$  легочной ткани применяем формулу  $\text{Nал} = \frac{n^{3/2}}{\beta V \rho}$ .

7. В целом легком животного определенного возраста количество альвеол ( $\text{N}_{\text{AT}}$ ) обнаруживаем по формуле  $\text{N}_{\text{AT}} = \text{Nал} \cdot \varphi \text{VLS}$ , где  $\varphi \text{VLS}$  составляет 90% от общего объема гистологически обработанного легкого.



Рис. 2. Шахматный порядок расположения альвеолярных входов в системе альвеолярного хода ацинуса.  $\times 1000$  (сканирующий электронный микроскоп Swiscan/100 (США))

Выявляемое количество альвеол исчисляется в целом легком миллионами единиц. Новейшими исследованиями, с помощью электронной микроскопии, нами установлено пространственное расположение альвеол, показывающее точную картину их упаковки в сравнительно небольшом объеме легкого (рис. 2). Нередко необходимо определить общую площадь альвеолярной поверхности целого легкого ( $\text{SAT}$ ), что и находим по формуле



$$SAT = NAT \cdot \delta_{ал} \left( \frac{\text{рал} \cdot \varphi VL}{NAT} \right)^{2/3},$$

где  $\delta_{ал}$  — средний коэффициент конфигурации, равный 4,87. Параметр  $\varphi VL$  представляет 90% от общего объема нативного легкого. Определение

ра барьера воздух — кровь, через который осуществляется основной процесс газообмена.

Для демонстрации метода приводим таблицу некоторых параметров легких, полученных в наиболее конт-

Таблица сравнительных морфометрических данных легких крыс в возрасте от 3-х до 1080 дней

Возраст крысы в днях	Объем легких, мл		Воздушность легочной ткани, %	Количество альвеол в целом легком, ед	Площадь всей альвеолярной поверхности нативных легких, см <sup>2</sup>
	нефиксированных (нативных)	фиксированных (в 10% ном формалине)			
3	0,91	0,5	10,4	1,5 · 10 <sup>6</sup>	61
130—450	8,74	4,8	38,8	20 · 10 <sup>6</sup>	2500
1080	14,56	8,0	64,6	11,3 · 10 <sup>6</sup>	3600

SAT тем более целесообразно, что в составе ее находится также структу-

растных возрастных группах животных.

### РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

В результате проведенных морфометрических исследований получены данные роста, развития и старения легких.

Гистометрические данные легких крыс (от новорожденности до старости) имеют динамически изменяющиеся математические показатели не только в процессе роста, но и в связи с наступающей старостью крысы.

Гистометрическое изучение легких выявило увеличение параметров объема и воздушности легких старых крыс, связанное с расширением транзитной зоны ацинусов. При этом отмечается также, что общая площадь

альвеолярной поверхности, несмотря на падение количества альвеол, даже увеличивается за счет разрастания и фиброза волокнистой соединительной ткани в структуре межальвеолярных перегородок.

Дыхательная поверхность для указанных возрастов мало изменяется, что свидетельствует о постоянно совершающейся нивелировке параметров в течение жизни животного. Морфометрические исследования легких в постнатальном онтогенезе являются базовыми для дальнейшего изучения закономерностей старения.

### ЛИТЕРАТУРА

1. Автандилов Г. Г. Морфометрия в патологии, «Медицина», М., 1973.
2. Автандилов Г. Г., Бацура Ю. Д. Бюлл. эксп. биол., 6, 123—125, 1974.
3. Автандилов Г. Г., Яблучанский Н. И., Губенко В. Г. Системная стереометрия в изучении патологического процесса, «Медицина», М., 1981.
4. Бейли Н. Математика в биологии и медицине, «Мир», М., 1970, 326.
5. Вейбель Э. Р. Морфометрия легких человека, «Медицина», М., 1970.
6. Кори Г., Кори Т. Справочник по математике для научных работников и инженеров, «Наука», М., 1973.

ზ. თოფურია

თბილისის სახელმწიფო სამედიცინო ინსტიტუტი

რ ე ზ ი უ მ ე

კვლევის აპრობირებული მორფომეტრიული მეთოდის გამოყენებით ავტორმა გამოავლინა, რომ ვირთავას დაბერებისას ფილტვების მოცულობის ზრდას ალვეოლის ტრანზიტორული ზონის გაფართოება განაპირობებს. მეორე მხრივ, ბებერი ვირთავას ფილტვებში, ხდება რა ალვეოლათა საერთო რაოდენობის შემცირება, იზრდება ბარიერის „ჰაერი-სისხლი“ ეფექტური ზონაც. ეს მატება მიგვანიშნებს ორგანოს დაბერების თავისებურებაზე — ალვეოლათაშორის კონ-

სტრუქციებში (ინტერსტიციაში) შემადგენელ ქსოვილოვანი ელემენტების გამრავლებაზე — ფიბროზზე.

ორგანოს ჰისტომეტრიული მონაცემების ცვლილებები მეტყველებენ, რომ სიცოცხლის ციკლის განმავლობაში ხდება სასიცოცხლო პარამეტრების ნიველირება.

მორფომეტრიული კვლევის მეთოდი ხელმისაწვდომია, და მიზანშეწონილია მისი გამოყენება ორგანიზმის დაბერების პროცესის კანონზომიერებათა შესასწავლად.

## MORPHOMETRIC ANALYSIS OF THE SENILE PULMONARY CHANGES IN POSTNATAL ONTOGENESIS

Z. M. TOPURIA

State Medical Institute, Tbilisi, USSR

### Summary

The pulmonary structures in ontogenesis were studied in albino rats by a conventional morphometric method. The lung volume increase in aging was shown to be due to the enlargement of the alveolar transitory zone. On the other hand, as the total number of alveoles in old rat's lungs become decreased the effective zone of the „air-blood“ barrier extends. Such an increase of the area of alveolar surface

implies the peculiarities of aging of the lungs and is due to the interstitial pulmonary fibrosis.

The histometric evidence testifies to a persistend levelling of the vital parameters throughout life of the animal.

The morphometric method is facile and it is reasonable to use it for studying the regularities of the organism's aging.

УДК 611.815

ГИСТОЛОГИЯ

## ПРЯМЫЕ ПРОЕКЦИИ ПРОМЕЖУТОЧНОГО ЯДРА МОЗЖЕЧКА КОШКИ НА КОРУ БОЛЬШИХ ПОЛУШАРИЙ ГОЛОВНОГО МОЗГА

Н. И. Белоиваненко, Н. К. Тотибадзе.

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

Поступила в редакцию 20.07.1982

Методом терминальной дегенерации Наута-Гигакс в модификации И. А. Замбрицкого выявлены прямые проекции промежуточного ядра мозжечка кошки на кору обоих полушарий большого мозга.

Хорошо выраженная дегенерация волокон отмечается в VI слое краевой (поля 17, 18), супрасильвиевой (поле 21) и эктосильвиевой (поле 22) извилин. Менее выраженная — в VI слое сигмовидной (поля 3,4), коронарной (поле 4В), краевой (поля 1, 19, 53), супрасильвиевой (поля 2, 5, 7) и эктосильвиевой (поля 2, 50) извилин.

Переход перерожденных волокон в кору контралатерального полушария большого мозга прослежен, помимо верхних ножек мозжечка и задней комиссуры, и в мозолистом теле.

По данным ряда электрофизиологических исследований предполагается наличие прямых эфферентных связей ядер мозжечка с корой больших полушарий как своей, так и контралатеральной стороны [1, 2, 3, 7, 9, 11].

Морфологическое подтверждение наличия этих проекций дается в нескольких работах [4, 6], в которых описаны прямые эфференты мозжечка в коре большого мозга как своей, так и противоположной стороны. В последнем случае местом перекреста этих проекций признаются верхние ножки мозжечка и задняя комиссура. Что же касается роли мозолистого тела (МТ) в переходе прямых моз-

жечковых волокон на контралатеральное полушарие, то в известной нам литературе вопрос этот никем не исследован. В одной из предыдущих работ [8], при изучении эфферентных связей червя мозжечка с корой больших полушарий головного мозга, нами были отмечены перерожденные волокна и в МТ.

В данной работе представлены результаты подробного изучения распределения прямых проекций промежуточного ядра мозжечка на кору больших полушарий мозга как своей, так и контралатеральной поврежденной стороны.

### МАТЕРИАЛ И МЕТОДИКА

Опыты проводились на пяти взрослых кошках. Четырем из них под нембуталовым наркозом в асептических условиях по координатам стереотаксического атласа [10] унилатерально электролитически повреждалось промежуточное ядро мозжечка (постоянный ток 1—2 мА в течение 30—60 с). Одной кошке, служившей контролем,

электрод вставлялся по тем же координатам без пропускания повреждающего тока. Спустя 8—9 дней животные умерщвлялись под эфирным наркозом; мозг извлекался и обрабатывался по методу Наута-Гигакс в модификации И. А. Замбрицкого [5]. Срезы с поврежденным участком параллельно окрашивались кризильно-

летом. Результаты изучения препаратов наносились на схематический рисунок мозга кошки с обозначением по-

лей коры большого мозга по тому же атласу (рис. 1).

НАУКА И ТЕХНИКА  
СОВЕТСКОМУ  
ОБЩЕСТВУ

## РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЙ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

На стороне повреждения промежуточного ядра мозжечка фрагментированные волокна прослеживаются в

не ствола и валика (рис. 3) и, в сравнительно меньшем, — в колене. В передней части МТ перерожденные волокна большей частью среднего и мелкого калибра. Волокна из МТ рас-

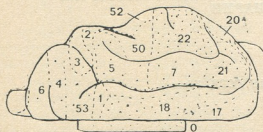


Рис. 1. Схема дорсальной поверхности большого мозга и МТ кошки с обозначением мест распределения дегенерированных волокон при электролитическом повреждении промежуточного ядра мозжечка

большом количестве в задних частях коры плаща большого мозга, в VI слое краевой (поля 17, 18) — рис. 2,

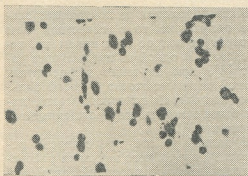


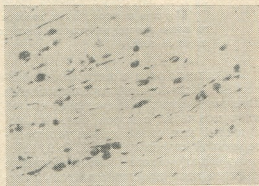
Рис. 2. Перерожденные волокна в VI слое краевой извилины (поле 17), при повреждении промежуточного ядра мозжечка

супрасильвиевой (поле 21) и эктосильвиевой (поле 22) извилин. В меньшем количестве они выявлены в VI слое коры передних и средних частей мозга: сигмовидной (поля 3, 4), коронарной (поле 4В) — рис. 3, краевой (поля 1, 19, 53), супрасильвиевой (поля 2, 5, 7) и эктосильвиевой (поля 2, 50) извилин.

В МТ перерожденные волокна крупного и среднего калибра отмечаются в достаточном количестве на уров-



а



б

Рис. 3. Перерожденные волокна в стволе (а), в валике МТ (б) при повреждении промежуточного ядра мозжечка

пространяются в его радиации, откуда идут к тем же полям коры противоположного полушария, что и на ипсилатеральной поврежденной стороне.

При сравнении обоих полушарий, как видно из описанного экспериментального материала, распределение перерожденных волокон отмечается в одних и тех же участках коры большого мозга. Однако на противоположной повреждению стороне в передних участках коры большого мозга количество их меньше; разница постепенно сглаживается в каудальном на-



правлении, и в задних полях коры совершенно исчезает.

Обращает на себя внимание тот факт, что количественное распределение перерожденных волокон в перед-

не-заднем направлении в МТ соответствует их количественному распределению в коре полушарий большого мозга.

## ЛИТЕРАТУРА

1. Амадуни А. С. В кн.: Нейронные механизмы интегративной деятельности мозжечка, Изд-во АН Арм.ССР, Ереван, 1979, 113—123.
2. Бекая Г. Л. Тр. Ин-та физиологии АН ГССР, Тбилиси, 14, 1965, 101—105.
3. Григорян Р. А. Журн. эвол. биохимии и физиол., 2, 1, 45—52, 1966.
4. Дзугаева С. Б. Проводящие пути головного мозга человека, «Медицина», М., 1975.
5. Замбрицкий И. А. Бюлл. экп. биол. и мед., 14, 119—120, 1963.
6. Косарева А. А. В сб.: Эволюция функции, «Наука», М.—Л., 1964, 264—273.
7. Папоян Е. В. Физиол. ж. СССР, им. И. М. Сеченова, 57, 1, 3—9, 1971.
8. Тотибадзе Н. К., Белоиваненко Н. И. Сообщения АН ГССР, 98, 1, 185—188, 1980.
9. Combs C. M., Denney J. M. Exp. Neurology, 2, 6, 613—620, 1960.
10. Reinoso-Suares F. Topographischer Hirnatlas der Katze für experimental physiologische Untersuchungen, Herausgegeben von E. Merck, A. G. Darmstadt, 1961.
11. Sasaki K., Kawaguchi S., Matsuda J., Misumo N. Exp. Brain Res., 16, 75—86, 1972.

კატის ნათხემის შუამდებარე ბირთვის პირდაპირი პროექციები  
დიდი ტვინის ქერქთან

ბ. ბილოვიანიანი, ნ. თოთიანი

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

რეზიუმე

ნაუტა-გიგაქის ტერმინალური დეგენერაციის მეთოდით შესწავლილ იქნა კატის ნათხემის შუამდებარე ბირთვის პირდაპირი პროექციები დიდი ტვინის ორივე ჰემისფეროს ქერქზე.

დადგინდა ამ ბირთვის კარგად გამოხატული პროექციები ქერქის ლატერალური (ველები 17, 18), სუპრასილვიური (ველი 21) და ექტოსილვიური (ველი 22) ხვეულების VI შრეებზე. შედარებით სუსტადაა გამოხატული ეს პროექციები

სიგმოიდური (ველები 3, 4), კორონალური (ველი 4), ლატერალური (ველები 1, 19, 53), სუპრასილვიური (ველები 2, 5, 7) და ექტოსილვიური ხვეულების (ველები 2, 50) VI შრეებზე.

დეგენერირებული ბოჭკოების გადასვლა დიდი ტვინის მოპირდაპირე ჰემისფეროში, გარდა ნათხემის წინა ფეხებისა და უკანა კომისურისა, ხდება აგრეთვე კორძიანი სხეულის საშუალებით.

DIRECT PROJECTIONS OF NUCLEUS INTERPOSITUS CEREBELLI TO  
THE CEREBRAL CORTEX IN CATS



N. I. BELOIVANENKO, N. K. TOTIBADZE

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

Summary

Using the terminal degeneration method of Nauta-Gygax as modified by Zambzhitski, direct projections of nucleus interpositus cerebelli to the cerebral cortex were traced.

Well-pronounced fibre degeneration was found in layer VI of the marginal (areas 17, 18) suprasylvian (area 21) and ectosylvian (area 22) gyri. It is less

pronounced in layer VI of the sigmoid (areas 3, 4), coronal (area 4B), marginal (area I, 19, 53), suprasylvian (areas 2, 5, 7) and ectosylvian (areas 2, 50) gyri.

Transfer of degenerated fibres to the contralateral cerebral hemisphere, apart from the brachia conjunctiva of cerebelli and posterior commissures, was observed in corpus callosum too.

УДК 577.15.663.236

БИОХИМИЯ

## О ПЕРСПЕКТИВАХ ИСПОЛЬЗОВАНИЯ МИКРОБНЫХ ИНВЕРТАЗ В ПРОИЗВОДСТВЕ БЕЗАЛКОГОЛЬНЫХ НАПИТКОВ

В. Г. Чичуа, А. Н. Нижарадзе, П. Д. Ниорадзе, А. К. Церетели,  
Г. И. Квеситадзе

НИИ пищевой промышленности, Тбилиси  
Институт биохимии растений АН ГССР, Тбилиси

Поступила в редакцию 29.07.1982

Отобраны наиболее активные микробные препараты инвертаз с целью их применения в пищевой промышленности. Исследованы свойства ферментных препаратов инвертаз, определяющие эффективность их применения (рН-оптимум, температурный оптимум, термостабильность, кислотостабильность, концентрация субстрата). Максимальная активность для дрожжевой инвертазы проявляется при 60°C, а для грибной — 50°C. Установлено, что грибная инвертаза более кислотостабильна, а дрожжевая — термостабильна. Инвертаза как дрожжевого, так и грибного происхождения осуществляет инверсию сахарозы на 100%.

Среди гидролитических ферментов, имеющих промышленное значение, важная роль отводится β-фруктофуранозидазе [Н. Ф. 3.2.1.26]. Известно, что в кондитерской промышленности при производстве помадных конфет, вафель, а также других изделий пищевой промышленности, быстро теряющих влагу, инвертаза (β-фруктофуранозидаза) находит эффективное применение [4].

В последнее время этот фермент привлекает широкий круг исследователей в связи с возможностью его использования при производстве безалкогольных напитков [2]. Инвертаза способна осуществлять инверсию сахарозы, увеличивать стойкость сиропов и предупреждать их кристаллизацию [3].

Применение β-фруктофуранозидазы при приготовлении сахарных сиропов позволяет сократить расход сахара до 5%, улучшает вкус напитка, предотвращает образование в сиропах вредного для организма человека оксиметилфурфуrolа и позволяет рационально использовать отходы пивных дрожжей, для получения ферментного препарата инвертазы [1].

В работе приводится оценка важнейших физико-химических свойств ферментных препаратов инвертаз, выпускаемых отечественной промышленностью с целью их последующего использования при производстве безалкогольных напитков.

В работе использованы инвертаза из дрожжей марки «А»; грибная инвертаза из *Aspergillus awamori*; инвертаза дрожжевая Вильнюсского завода ферментных препаратов; инвертаза дрожжевая из *Saccharomyces carlsbergensis*; инвертаза дрожжевая фирм «Calbiochem» (США) и «Reanal» (Венгрия); инвертаза дрожжевая (Румыния).

Препарат инвертазы, выделенный из дрожжей *Fabospora fragilis*, получали выращиванием на среде следующего состава (г/л): сухая сыворотка — 27 (20 г лактозы);  $\text{NH}_4\text{H}_2\text{PO}_4$  — 6,  $\text{MnSO}_4$  — 0,164, сухой дрожжевой экстракт — 0,2. Выращивание дрожжей проводилось в течение 24 ч при 26—28°C в автоматизированных 30-литровых японских ферментерах фирмы «Marubishi».

Экстракция фермента из предварительно высушенных дрожжевых

клеток проводили в присутствии толуола и 0,005M Na-фосфатным буфером pH 7,0 с  $1 \cdot 10^{-2}$  MgCl<sub>2</sub>. Дрожжи отделяли центрифугированием при 5000 об/мин в течение 20 мин. В вытяжке определяли активность фермента.

Активность инвертазы определяли по методу, предложенному Куликовой [5]. Метод основан на повышении качества редуцирующих сахаров в ферментном гидролизате по сравнению с нулевой пробой.

В качестве общей характеристики фермента инвертазы следует отметить, что дрожжевая форма этого фермента является значительно более распространенной по сравнению с грибной, а инвертаза *S. cerevisiae* отнесена к категории пищевых добавок, которые в США признаны как безопасные [6].

С целью выявления наиболее перспективных для практического использования инвертаз мы исследовали активность и содержание белка у ряда препаратов, производимых как в нашей стране, так и за рубежом. Данные этих опытов представлены в табл. 1. Из этих данных очевидно, что наиболее высокой активностью инвертазы выделяется препарат фирмы «Calbiochem». Следует отметить, что все остальные приведенные в этой таблице препараты загрязнены большим количеством балласта, т. е. не подвергались специальной очистке.

Среди отечественных предпочтение следует отдать препарату дрожжевой инвертазы марки «А», производимой НПО «Биохимреактив», процентное значение  $K_m$  которого оказалось равным 1,43.

С нашей точки зрения, интерес представляет и препарат инвертазы, выделенный из культуры дрожжей *Fabospora fragilis*. Кроме довольно высокой инвертазной активности, он характеризуется и активностью другого фермента  $\beta$ -галактозидазы 1000 ед/г [8].

В ходе работы, направленной на выявление условий реакции, обеспечивающих максимальную скорость гидролиза субстрата, нами отобраны три препарата: дрожжевая инвертаза марки «А», инвертаза *Fabospora fragilis* и грибная инвертаза из культуры *A. awamori*.

Мы имели возможность не только установить оптимальные параметры ферментативной реакции, но и провели сравнительный анализ между важнейшими промышленными характеристиками грибных и дрожжевых инвертаз.

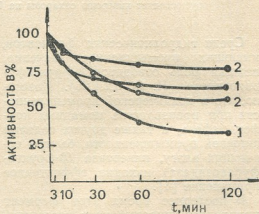
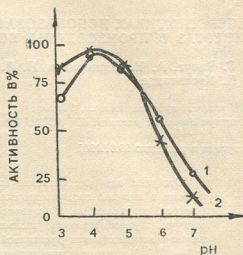


Рис. 1. pH профиль (а) активности дрожжевой инвертазы марки «А» и грибной инвертазы *A. awamori*: 1 — дрожжевая инвертаза марки «А», 2 — грибная инвертаза; б — стабильность грибной (— —) и дрожжевой (—○—) инвертазы марки «А» при значениях pH: 2,5—1 и 3,5—2 и 40°

Принимая во внимание то, что эффективность действия ферментных препаратов в значительной степени определяется кислотностью реакционной среды, мы изучили влияние pH среды на активность отобранных инвертаз. Как было установлено, все



три препарата имеют оптимальное значение pH в слегка кислой области. Аналогичные результаты были получены и у других исследователей [9, 7].

На рис. 1(а) показан профиль активности дрожжевой инвертазы марки «А» и грибной инвертазы *A. awamori*. Следует отметить, что аналогичное влияние оказывало pH реакционной среды и на активность инвертазы *Fabospora fragilis*.

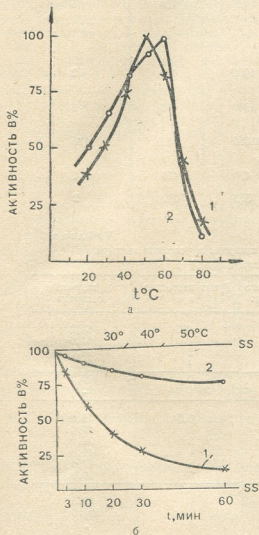


Рис. 2. Температурный оптимум (а) действия грибной инвертазы, *A. awamori* и дрожжевой инвертазы марки «А»: 1 — грибная, 2 — дрожжевая инвертазы; б — термостабильность дрожжевой инвертазы марки «А» при разных температурных режимах: 1 — 70°C; 2 — 60°C

Несколько повышенной кислотостабильностью характеризуются грибные инвертазы по сравнению с дрож-

жевыми (рис. 1,б), хотя в целом следует отметить довольно высокую кислотостабильность инвертаз как дрожжевого происхождения.

Одной из важнейших характеристик ферментов, зачастую определяющих технологическую схему их использования, является их температурный оптимум действия и термостабильность. Возможность проводить ферментативные реакции при сравнительно высоких температурах имеет большое значение, заключающееся в стерильности процесса, повышении выхода и чистоты конечного продукта. Учитывая это важное обстоятельство, мы изучили температурный оптимум действия исследуемых нами инвертаз. На рис. 2(а) показаны температурные оптимумы действия дрожжевой инвертазы марки «А» и грибной инвертазы *A. awamori*. Как видно из представленных данных, оптимальная температура, обеспечивающая максимальную скорость реакции для дрожжевой инвертазы, равна 60°C, а грибной — 50°C. Эта серия опытов проводилась на 1%-ном растворе сахарозы.

Опыты по термостабильности ферментов проводили в отсутствии субстратов при разных значениях температур. При этом через определенные промежутки времени из опытных образцов доставались пробы и анализировались на активность обычным способом. На рис. 2(б) показана термостабильность дрожжевой инвертазы марки «А». Из рисунка видно, что после нагревания фермент не теряет активности при 50°C в течение часа, а при 70°C сохранял лишь 15% активности. Аналогичные результаты по термостабильности инвертазы получены Негоро и Кито [10] для инвертазы из *Candida Kefyr*. Будворт и Вайсман [11] сообщали об инвертазе из *Candida Ustilis*, стабильной при нагревании до 80° в 60%-ном растворе сахарозы.

Учитывая то, что инвертаза *Fabospora fragilis* обладала абсолютно идентичными свойствами по сравнению с инвертазой марки «А», мы не приводим в работе эти данные. Грибная инвертаза характеризовалась несколько пониженными термостабильными свойствами. Так, в результате инкубации при 60°C активность

грибной инвертазы понижалась более, чем на 50%, в то время как дрожжевая инвертаза марки «А» в анало-

гичных условиях сохраняла более 80% исходной активности.



Таблица 1

Активность разных ферментных препаратов инвертаз

Препарат	Активность, ед/г	Белок, мг/г	Удельная активность белка, ед/мг
Инвертаза из дрожжей марки «А»	18500	520	36
Грибная инвертаза из <i>Aspergillus awamori</i>	880	450	2
Инвертаза дрожжевая из <i>Saccharomyces carlsbergensis</i>	630	480	1
Инвертаза дрожжевая Вильнюсского завода ферментных препаратов	1000	440	2
Инвертаза дрожжевая из <i>Fabospora fragilis</i>	1080	410	3
Инвертаза дрожжевая фирмы «Calbiochem» (США)	43055	320	135
Инвертаза дрожжевая фирмы «Reanal» (Венгрия)	470	410	1
Инвертаза дрожжевая (Румыния)	580	380	2

Таблица 2

Скорость ферментативной конверсии сахарозы в условиях высокой концентрации субстрата (55%)

Фермент	Доза ферментного препарата в ед.	Время гидролиза в ч	% гидролиза сахарозы
Дрожжевая инвертаза марки «А»	259	0,5	61,0
		1	81,0
		2	93,0
		4	100,0
	2590	0,5	100,0
		1	"
Дрожжевая инвертаза из <i>Fabospora fragilis</i>	5	0,5	19,0
		1	29,0
		2	38,0
		4	40,0
		5	42,0
		6	76,0
	250	0,5	75,5
		1	89,5
		2	100,0
		4	"
Грибная инвертаза из <i>A. awamori</i>	4	0,5	10,0
		1	17,0
		2	20,0
		4	25,0
		6	35,0
		9	50,0
		22	75,0
		200	0,5
	1		56,0
	2		89,0
	4		100,0

Таким образом, в качестве общей характеристики дрожжевых и грибных инвертаз следует отметить, что грибные инвертазы более кислото-стабильны, а дрожжевые отличаются слегка повышенными термостабильными свойствами.

На отобранных нами ферментных препаратах инвертаз была изучена скорость образования продуктов гидролиза в 55%-ном растворе сахарозы при pH-7,2 и температуре 60°C. Для этого дрожжевую инвертазу марки «А» с активностью 18 500 ед/г вносили в раствор в количестве 0,1% (259 ед) и 1% (2590 ед) от веса сахара, лиофилизированный ферментный препарат из дрожжей *Fabospora fragilis* с активностью 360 ед/г — в количестве 0,1% (5 ед) и 5% (250 ед), грибную инвертазу из *A. awamori* — 0,1% (4 ед) и 5% (200 ед).

Данные приведены в табл. 2. Видно, что 0,1% (от веса сахара) дрожжевой инвертазы марки «А» гидролизует полностью раствор сахарозы за 4 ч, тогда как 1% — за 30 мин.

Таким образом, можно констатировать, что все три изученных нами препарата осуществляли инверсию сахарозы на 100%, и, следовательно, целесообразность их практического использования не вызывает сомнений. Надо отметить, что особенно следовало бы обратить внимание на препарат, выделенный из *Fabospora fragilis*, который обладает активностями инвертазы и β-галактозидазы. При разработке промышленного метода разделения этих двух активностей удалось бы получить два ценных для пищевой промышленности ферментных препарата с высокими удельными активностями.

## ЛИТЕРАТУРА

1. Грачева И. М. Технология ферментных препаратов, «Пищевая промышленность», М., 1975.
2. Коновалов С. А. Биохимия дрожжей, Пищепромиздат, М., 1962.
3. Королев Д. А., Чекан Л. И., Денщиков М. Т. Технология безалкогольных напитков, Пищепромиздат, М., 1962.
4. Кохрейн А. Л. Инвертаза, ее производство и применение, Пищепромиздат, М., 1963.
5. Куликова А. К. β-галактозидаза *Saccharomyces fragilis*, Автореф. канд. дисс., М., 1975.
6. Дж. Рид. Ферменты в пищевой про-

мышленности, «Пищевая промышленность», М., 1971.

7. Серова Ю. Э., Добролинская Г. М. Прикл. биохим. и микроб., XII, 5, 709—714, 1976.
8. Тихомирова А. С., Куликова А. К., Церетели А. К., Гоголева М. Н., Летунова Е. В. Микробиология, XVII, I, 26—31, 1978.
9. Gascon S., Nuemann N. P., Lampen J. O. Biol. Chem., 243, 7, 1573—1577, 1968.
10. Negro H., Kito E. Ferment. Technol., 51, 2, 103—109, 1973.
11. Woodward J., Wiseman A. Appl. Chem. Biotechnol., 26, 10, 580—587, 1976.

## მიკრობული ინვერტაზის გამოყენების პირსპექტივები უალკოჰოლო სასმელების წარმოებაში

3. ჩიჩუა, ა. ნიშარაძე, პ. ნიორაძე, ა. წირთმელი, ზ. კვიციანიძე

საქართველოს სსრ მეცნიერებათა აკადემიის მეცნიერთა ბიოქიმიის ინსტიტუტი, თბილისი  
საქართველოს კვების მრეწველობის სამეცნიერო-კვლევითი ინსტიტუტი, თბილისი

რეზიუმე

შერჩეულ იქნა ინვერტაზის ყველაზე მეტად აქტიური პრეპარატები კვების მრეწველობაში მათი გამოყენების თვალსაზ-

რისით. დადგენილ იქნა ინვერტაზის ფერმენტულ პრეპარატთა ის ოპტიმალური პირობები, რომლებიც განსაზღვრავენ მა-

თი გამოყენების ეფექტურობას (pH, ტემპერატურა, თერმომედეგობა, მქავემედეგობა, სუბსტრატის კონცენტრაცია). საფუვრის ინვერტაზის მაქსიმალური აქტივობა აღინიშნება 60°C-ზე. სოკოურისა კი — 50°C-ზე. დადგენილ იქნა, რომ სოკო-

ურის ინვერტაზა უფრო მქავემედეგო/საფუვრისა კი უფრო მაღალი თერმომედეგობით ხასიათდება. როგორც საფუვრის, ასევე სოკოურის წარმოშობის ინვერტაზა ახდენს საქაროზის 100%-ით ინვერსიას.

## ON THE PERSPECTIVES OF MICROBIOL INVERTASE APLIKATION

V. G. CHICHUA, A. N. NIZHARADZE, P. D. NIORADZE, A. K. TSERETELI, G. I. KVESITADZE

Scientific Research Institute of Food Industry of the Georgian SSR, Tbilisi  
Institute of Plant Biochemistry, Georgian Academy of Sciences, Tbilisi, USSR

### Summary

Crude microbiol enzyme preparations of invertase, produced in the USSR and abroad, have been studied and as a result, the most active invertase preparations have been chosen.

The properties of invertase preparations, defining the effectiveness of their application /PH—and temperature optimum, thermostability, acid-stability, sub-

strate concentration/ have been investigated. Maximum activity for yeast invertase is revealed at 60°C and for fungial at 50°C. Fungial invertase was shown to be more acid-stable and yeast invertase thermostable. Invertase of yeast and fungial origin, carries out 100% inversion of sucrose.



УДК 615.7:547.944/945

ФАРМАКОЛОГИЯ

## О СТЕПЕНИ ИЗБИРАТЕЛЬНОСТИ ФАРМАКОЛОГИЧЕСКИХ ЭФФЕКТОВ АКУАММИНА

М. Г. Лебанидзе, М. Д. Гедеванишвили

*Институт фармакохимии им. И. Г. Кутателадзе АН ГССР, Тбилиси*

Поступила в редакцию 25.01.1982

Алкалоид акуаммин стимулирует сокращение гладкомышечных органов, чувствительных к серотонину — изолированной фундальной полоски желудка и матки крысы. Однако подвздошная и тонкая кишки морской свинки и сосуды изолированного уха кролика оказались практически нечувствительными к нему. На семьявносящем протоке крысы акуаммин проявляет свойства адrenoблокатора. При внутривенном введении акуаммина кошкам системное действие, характерное для серотонина (хе-морerefлекс Бецольда-Яриша), слабо выражено. Таким образом, алкалоид акуаммин представляет собой серотониномиметическое вещество, активное только в отношении ограниченного числа серотонинчувствительных органов и систем.

Акуаммин — алкалоид, обнаруживающийся в растениях семейства кутровых [1, 5, 9, 10], был выделен также из произрастающего в Грузии барвинка травянистого [3]. Фармакологическая активность акуаммина описана в литературе [4]. Однако степень избирательности влияния акуаммина в отношении некоторых физиологических функций специально не исследовалась.

### МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ

Сравнительное изучение активности препаратов проводили на изолированных гладкомышечных органах по общепринятым методам фармакологического скрининга [2, 11]. В качестве тест-объектов служили: фундальная полоска желудка, матка и семьявносящий проток крысы; сосуды изолированного уха кролика; отрезки подвздошной и тонкой кишок морской свинки.

В специальных острых опытах на кошках изучали влияние акуаммина

Ввиду того, что акуаммин по химической структуре относится к производным индола (рис. 1) и наиболее близок с этой точки зрения к серотонину, представляло интерес изучить, в первую очередь, его избирательную активность в отношении тест-объектов, проявляющих чувствительность именно к данному биогенному моноамину.

на показатели системного артериального давления (запись открытым способом в сонной артерии при помощи ртутного манометра), трахеального дыхания (регистрация при помощи капсулы Марей) и сердечной деятельности (запись сокращений с помощью рычага, присоединенного к сердечному пинцету). Хлористоводородную соль акуаммина и адипинат серотонина растворяли в дистиллированной воде.

### РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

Фундальная полоска желудка крысы, которая, как известно, является

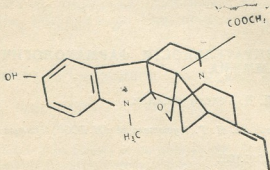
наиболее чувствительным объектом и в силу этого применяется для био-

логической идентификации серотонина, сокращалась под влиянием как серотонина, так и акуаммина. Однако эффективная концентрация акуаммина составляла  $5 \cdot 10^{-6} \text{M}$ , что намного

акуаммина проявляется в диапазоне микромолярных концентраций ( $5 \cdot 10^{-6}$  —  $5 \cdot 10^{-5} \text{M}$ ).

Указанные концентрации алкалоида практически не вызывали сосудо-

Рис. 1. Акуаммин



превышает эффективную концентрацию серотонина —  $5 \cdot 10^{-10} \text{M}$  [6]. Эффекты данных препаратов различались также и по характеру вызванного сокращения — для акуаммина характерны более продолжительные латентный период и время достижения максимального сокращения (рис. 2).

суживающего эффекта на препарате изолированного уха кролика; судя по количеству оттекающей жидкости уменьшение количества капель на 10—16% статистически недостоверно. Акуаммин в этих же концентрациях оказался неактивным и в отношении отрезков подвздошной и тонкой кишок морской свинки, тогда как серо-

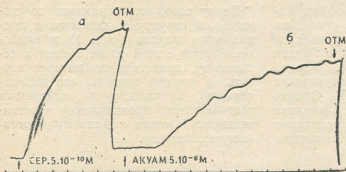


Рис. 2. Влияние серотонина (а) и акуаммина (б) на фундальную полоску желудка крысы. Стрелками указан момент введения препаратов в инкубационную среду; концентрация серотонина —  $5 \cdot 10^{-10} \text{M}$ , акуаммина —  $5 \cdot 10^{-6} \text{M}$ ; «ОТМ» — отмывание. Отметка времени — 15 с

Активность акуаммина проявлялась также и на другом высокочувствительном к серотонину объекте, эстрогенизированной матке крысы. Действующие концентрации акуаммина примерно в 1000 раз превышали действующие концентрации серотонина. Кроме того, в отличие от серотонина, алкалоид в результате однократного воздействия вызывал повторные сокращения миометрия (рис. 3). Аналогичный эффект был описан и в случае некоторых других химических соединений индольной группы [7].

Таким образом, в отношении наиболее чувствительных к серотонину объектов спазмогенная активность

тонин вызывал явно выраженное сокращение этих объектов.

Проведенные эксперименты позволили установить как действующие дозы, так и высокую избирательность действия акуаммина в отношении некоторых гладкомышечных органов, чувствительных к серотонину, в частности в отношении фундальной части желудка и матки.

В виду того, что сократительную реакцию эстрогенизированной матки могут вызывать также и альфа-адренергические агенты, активность акуаммина была проверена в отношении изолированного семьявносящего протока крысы — тест-объекта, исполь-

зубею для биологической идентификации альфа-адреномиметиков [2].

Оказалось, что акуамин в широком диапазоне доз ( $2 \cdot 10^{-7}$ — $8 \cdot 10^{-4}$ М) не вызывал сокращения протока — отмечалось только незначительное повышение тонуса. Более того, в присутствии алкалоида специфическая

частьности, в результате внутривенного введения до 10 мг/кг акуамин отмечалось некоторое урежение сердечных сокращений, сопровождающееся незначительным понижением артериального давления (на 20—29% от исходного); со стороны дыхания изменения отсутствовали.

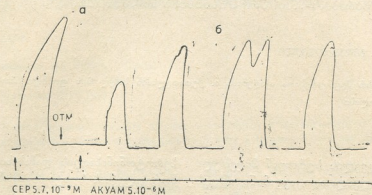


Рис. 3. Влияние серотонина (а) и акуаминна (б) на изолированную матку крысы. Концентрация серотонина —  $5.7 \cdot 10^{-9}$  М, акуаминна —  $5 \cdot 10^{-6}$  М. Обозначения те же, что на рис. 2

сократительная реакция на высокоактивный альфа-адреномиметик мезатон значительно ослаблялась. Таким образом, акуамин не только не проявляет адреномиметического действия, но наоборот, обнаруживает свойства антагониста.

С точки зрения избирательной серотониномиметической активности акуаминна существенно, что при его внутривенном введении кошкам явления системного действия, характерные для серотонина (10 мг/кг) и известные [8] под названием триады Бецольда-Яриша (резкое падение кровяного давления, брадикардия, апноэ), крайне слабо выражены. В

Таким образом, по сравнению с серотонином алкалоид акуамин проявляет стимулирующую активность в отношении только ограниченного числа гладкомышечных органов, таких как желудок и матка крысы, и не активен в отношении других органов и систем, также высокочувствительных к серотонину.

Очевидно, что для решения вопроса о наличии истинных серотониномиметических свойств у данного алкалоида необходимо изучение его взаимодействия с соответствующими рецепторами чувствительных органов.

## ЛИТЕРАТУРА

1. Абдурахимова Н., Юлдашев П. Х., Юнусов С. Ю. ДАН Уз. ССР, 4, 33—36, 1964.
2. Авакян О. М. В кн.: Симпато-адренальная система, «Наука», Л., 1977, 95—96.
3. Асатиани В. С., Муджири М. М., Муджири К. С. Сообщения АН ГССР, 64, 2, 341—345, 1971.
4. Ахмедходжаева Х. Г., Курмуков А. Г., Султанов М. Б. В кн.:

Фармакология алкалоидов и сердечных гликозидов, «ФАН», Ташкент, 1971, 17—23.

5. Касымов Ш. З., Юлдашев П. Х., Юнусов С. Ю. ДАН СССР, 162, 102—104, 1965.
6. Пидевич И. Н. Фармакология серотонинреактивных структур, «Медицина», М., 1977, 34—38.



7. Barlow R. B., Khan I. Brit. J. Pharmacol., 14, 99—107, 1969.
8. Compoe J. H., Van Linger R. C., Roncoroni A. Am. J. Physiol., 173, 3, 379—386, 1953.
9. Joule J. A., Smith G. F. J. Chem. Soc., 5, 312—324, 1962.
10. Olivier L. Bull. Assoc. Reg. Reach. Scient., 6, 22—23, 1967.
11. Turner R. A. Screening Methods in Pharmacology, Academic Press, New York—London, 1965, 27—59.

აკუამინის ფარმაკოლოგიური მფატების სელექტიურობის შესახებ

მ. ლებანიძე, მ. გედევანიშვილი

საქართველოს სსრ მეცნიერებათა აკადემიის ი. ქუთათელაძის სახელობის ფარმაკოქიმიის ინსტიტუტი, თბილისი

რ ე ზ ი უ მ ე

მცენარე გველის სუროდან მიღებული ინდოლური ალკალოიდი აკუამინი იწვევს ვირთავას კუჭის ფუნდალური ნაწილისა და საშვილოსნოს გლუვი კუნთების შეკუმშვას, მაგრამ არ მოქმედებს ბოცვრის იზოლირებული ყურის სისხლძარღვების, ვირთავას სათესლე სადინარის, ზღვის გოჭის თეძოსა და წვრილი ნაწლავების გლუვ კუნთებზე. კატებში ალკალოიდის ინტრავენური შეყვანის დროს აღინიშნება

სეროტონინისათვის დამახასიათებელი ქემორეფლექსის სუსტად გამოხატული მოვლენები.

ალკალოიდი აკუამინი, ამგვარად, წარმოადგენს სეროტონინმიმეტიკურ ნივთიერებას, რომელიც აქტიურია სეროტონინისადმი მგრძობიარე მხოლოდ განსაზღვრულ გლუვკუნთოვან ორგანოთა მიმართ.

SELECTIVE PHARMACOLOGICAL PROPERTIES OF AKUAMMINE

M. G. LEBANIDZE, M. E. GEDEVANISHVILI

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

S u m m a r y

Akuammine stimulates contraction of the rat fundal strip of the stomach and the isolated uterus. It is inactive in the isolated perfused ears of rabbits, vas deferens of the rat and the guinea-pig ileum and jejunum.

Bezold-Jarisch chemoreflex charac-

teristic for serotonin is poorly manifested when akuammine is injected intravenously in cats.

Evidently akuammine represents a serotonin-like substance, pharmacologically active only in certain serotonin-sensitive systems.



УДК 581.3

БОТАНИКА

## ФОРМИРОВАНИЕ ЗАРОДЫШЕВОГО МЕШКА *PEPEROMIA REZEDIFLORA* LINDEN ET ANDRE

Г. Е. Гваладзе

Институт ботаники АН ГССР, Тбилиси

Поступила в редакцию 28.05.1982

Дается последовательный процесс макроспоро- и макрогаметогенеза. Особое внимание уделяется выявлению примитивных черт в формировании зародышевого мешка.

Первые работы [7, 8] по эмбриологии рода *Peperomia* выявили своеобразное строение зародышевого мешка, получившее впоследствии название типа *Peperomia*. Тогда же было установлено, что конечная конструкция зародышевого мешка в пределах рода сильно варьирует и неоднотипна. Зародышевые мешки, описанные у разных видов данного рода [1, 3, 4, 6, 9, 10, 11, 14], фактически объединяют несколько форм, в которых, даже в пределах одного вида, варьирует картина строения зародышевого мешка и число его элементов (яйцевой аппарат может содержать два или три элемента, также лабильно число полярных ядер — семь, восемь или четырнадцать, непостоянно и число антипод). В схемах же, приводимых Кьяруджи [12] и Магешвари [2], попарно расположенные латеральные клетки сдвинуты к халазальному концу зародышевого мешка. По мнению Романова [5] эта схема содержит много искусственного.

Мурти [15], изучая несколько видов рода *Peperomia*, также отмечает изменчивость числа элементов зародышевого мешка: яйцевой аппарат двух-, либо трехклеточный, число полярных ядер варьирует от 6 до 9, а число периферических клеток — от 4

до 6. На основе своих данных автор заключает, что картина строения зародышевых мешков представителей рода *Peperomia* настолько непостоянна и пестра, что нет основания предпосчитать из нескольких, например, два варианта, как это делает Фагерлинд [9], и выделить их в виде подтипов зародышевого мешка типа *Peperomia*.

Морфологическим разнообразием зародышевого мешка вызван также и разнобой в применяемой терминологии. Например, расположенные у стенки зародышевого мешка клетки одними исследователями именуется антиподами, а другими — латеральными клетками. Группу латеральных клеток часть авторов считает яйцевым аппаратом. Фагерлинд [9], отождествляя синергиды с латеральными клетками, полагал, что зародышевый мешок типа *Peperomia* обладает только лишь латеральными клетками, одна из которых, в силу своего расположения у микропиле, дифференцируется в яйцеклетку. По Рутгерс [17], «сложный» зародышевый мешок типа *Peperomia* представляет собой совокупность четырех «простых» зародышевых мешков, каждый из которых содержит двухклеточный яйцевой аппарат и два полярных ядра.

### МАТЕРИАЛ И МЕТОДИКА

Мы исследовали последовательный процесс макроспоро- и макрогамето-

генеза зародышевого мешка у *Peperomia rezediflora* Linden et Andre.

Эмбриологический материал фиксировался фиксаторами Карнуа и Навашина. Обезжизнение и парафинирование проводились обычным способом, применяемым в микроскопической технике, материал резался тол-

щиной от 15 до 30 мк. Для окраски постоянных препаратов использовались кислый гемалаун и реактив Шиффа по Фельгену с подкраской лихтгрюн.

## РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

Наше исследование зародышевых мешков у *Peperomia rezediflora* показало, что не только конечная конструкция зародышевого мешка, но и весь процесс его формирования лишены какого-либо определенного плана, которому следует распределение ядер и клеток при развитии женского гаметофита.

Материнская клетка мегаспор имеет различные очертания, варьирует также расположение ядра в указанной клетке (рис. 1, 1—5).

в случае в материнской клетке макроспоры расположение и ориентация веретена первого деления мейоза не строго определены, в силу чего ядра довольно часто попадают не к противоположным полюсам, а к боковым стенкам (рис. 1, 8—9).

На последующей четырехъядерной фазе развития рост количества ядер еще более разнообразит их расположение (рис. 1, 10—14). Если на двухъядерной фазе перемещение ядер к противоположным полюсам все же

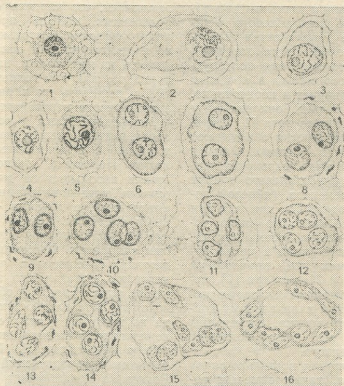


Рис. 1. Развитие зародышевого мешка у *Peperomia rezediflora* (двух-, четырех-, и восьмиядерная фазы)

Некоторая определенность имеется на двухъядерной фазе развития: ядра перемещаются к противоположным микропиллярному и халазальному полюсам клетки (рис. 1, 6—7). Однако следует отметить, что и в данном

наблюдается наиболее часто, и эту картину можно считать типичной, то на четырехъядерной фазе развития из множества различных расположений невозможно выделить какое-либо, встречаемое чаще других распо-

ложение, которое можно было бы принять за типичное.

На восьмиядерной фазе развития два ядра могут находиться в микропиллярной части зародышевого мешка, в то время как остальные шесть собираются в халазальной части. При этом расположение халазальных ядер неодинаково. Они могут быть в пристенной цитоплазме (рис. 1, 15; рис. 2, 1), либо располагаться в линию более плотной группой. Иногда все восемь ядер имеют пристенное расположение (рис. 1, 16). В других случаях они почти равномерно размещены в довольно густом тяже цитоплазмы или, не подчиняясь какому-либо

ка почти совсем лишена ядер. Следует отметить, что форма зародышевого мешка и, следовательно, ценоцита, видимо, и оказывает некоторое влияние на характер распределения ядер, однако довольно часты случаи, когда в зародышевых мешках, имеющих почти одинаковые очертания, ядра располагаются по-разному (рис. 1, 7—8; рис. 2, 1—2).

На шестнадцатиядерной фазе развития зародышевого мешка некоторая определенность в распределении ядер обнаруживается в зародышевом мешке грушевидной формы. Основная часть ядер собирается в расширенной халазальной части зародышевого

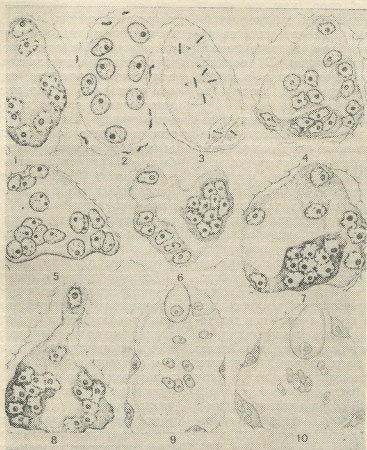


Рис. 2. Восьми- и шестнадцатиядерная фазы развития зародышевого мешка у *Peperomia rezediflora*; 9—10—сформированный зародышевый мешок

правилу, располагаются в полости зародышевого мешка, вдоль всей продольной оси (рис. 2, 2—3). При этом иногда ядра придвинуты к одной боковой стенке зародышевого мешка, в то время как противоположная стен-

ка суженный, удлинненный же микропиллярный конец чаще всего содержит два ядра, иногда три, изредка же — лишь одно ядро (рис. 2, 8). Халазальные ядра, иногда, разделя-



ются на две группы большей, хорошо выраженной вакуолью.

На шестнадцатиядерной фазе развития зародышевых мешков, имеющих сферическую или овальную форму, расположение ядер довольно разнообразно. В микропилярной части иногда размещены четыре ядра (рис. 2,5), а остальные двенадцать ядер располагаются в халазальной части зародышевого мешка. Реже у микропиле располагаются два ядра. Следует отметить, что в зародышевых мешках сферической и овальной форм в расположении ядер нет никакой закономерности (рис. 2, 4—7). В этих случаях не выявляется также влияние формы ценоцита на особенности расположения ядер, как это имеет место в зародышевом мешке грушевидной формы. Следовательно, на нашем материале не подтверждается указанное Фагерлиндом [9] влияние формы зародышевого мешка (в случае сферической и овальной форм) на расположение ядер.

Когда в микропилярной части зародышевого мешка расположены четыре ядра, то одна пара сестринских ядер дает начало двум синергидам, а другая пара — яйцеклетке и микропилярному полярному ядру. Как известно, подобная картина типична при дифференциации микропилярных элементов зародышевых мешков преобладающего большинства покрытосеменных растений. В таких случаях хорошо прослеживается генезис микропилярного полярного ядра. Четкая картина возникновения верхнего полярного ядра наблюдается и в тех зародышевых мешках, микропилярный конец которых содержит два ядра: одно из них дает начало яйцеклетке, а другое — верхнему полярному ядру (рис. 2,8). Иногда яйцевой аппарат двухклеточный и при этом, по-видимому, как синергида, так и яйцеклетка могут быть сестринскими по отношению к полярным ядрам (рис. 2,9). Подобную картину для *Peperomia*, приводит и Браун [7].

Конструкция зрелого зародышевого мешка *Peperomia*, яйцевой аппарат которого представлен одной яйцеклеткой (рис. 2,10), насколько нам известно, описывается нами впервые.

Как было показано, в зародышевых мешках *Peperomia* широко варьирует не только расположение ядер и

клеток, но и процесс их формирования. Более того, изменчива их функция. В случае, когда яйцевой аппарат является трехклеточным, происхождение синергид, их расположение и функции не выходят за пределы, характерные для преобладающего большинства покрытосеменных растений. Когда яйцевой аппарат двухклеточный, то синергида и яйцеклетка берут начало из одного и того же материнского ядра или же они являются сестринскими по отношению к полярным ядрам. Полярные ядра также являются сестринскими по отношению к латеральным клеткам.

Следует указать, что еще Лангле [13] приводил доказательства того, что синергиды образуются из одной пары сестринских ядер, а яйцеклетка и микропилярное полярное ядро — из другой. Как отмечает Магешвари [2], это положение за последние годы получило дальнейшее подтверждение и в настоящее время нет ни одного достоверного случая в пользу противоположного мнения. Как известно, теория Порша [16] о генезисе зародышевого мешка покрытосеменных была отвергнута именно на основе этих данных [2]. Зародышевый мешок *Peperomia* в этом отношении составляет явное исключение. Полярные ядра зародышевого мешка *Peperomia* могут быть сестринскими по отношению к яйцеклеткам, синергидам, латеральным клеткам, антиподам.

Таким образом, в отличие от любого типа зародышевых мешков покрытосеменных растений, элементы зародышевого мешка *Peperomia* затруднительно размежевать не только по их расположению, но и по процессам формирования и функциям. В указанном зародышевом мешке, как отмечали выше, крайне изменчиво число элементов. Яйцевой аппарат трех-, двух- или одноклеточный. Вместе с тем, эти клетки не характеризуются типичным строением — они окружены лишь плазмалеммой, лишены свойственной для растительной клетки оболочки. Непостоянным является также количество полярных ядер и антипод (латеральных клеток). По нашему мнению, в зародышевом мешке *Peperomia* относительно элементов более целесообразно говорить о прополярных ядрах, про-синергидах, проантиподах.





Все вышесказанное дает основание заключить, что зародышевый мешок *Peperomia* характеризуется явно выраженной низким уровнем организации, низкой степенью специализации.

Как известно, большинство исследователей [2, 4] зародышевый мешок типа *Polygonum* считает инициальным. Однако трудно представить, что зародышевый мешок *Peperomia*, развитие которого не подчинено каким-либо закономерностям, берет начало от *Polygonum*, весь процесс формирования которого строго упорядочен. Наиболее веским аргументом в пользу примитивности *Polygonum* считают его моноспоричность. Полностью соглашаясь с тем, что тетраспорический

женский гаметофит ведет начало от моноспорического, мы не исключаем также и той возможности, что сами покрытосеменные получили разноспоровость зародышевых мешков в наследство от эволюционно предшествующей группы растений.

Высказать определенное соображение относительно роли зародышевого мешка *Peperomia* в становлении женского гаметофита покрытосеменных растений весьма затруднительно. Однако нет сомнений в актуальности указанного вопроса и, по нашему мнению, исследование зародышевого мешка *Peperomia* может дать ценную информацию в этом плане.

#### ЛИТЕРАТУРА

1. Гваладзе Г. Е. Мат. VII Всес. симп. по эмбриологии растений, изд-во АН УССР, Киев, 1968, 76—77.
2. Магешвари П. Эмбриология покрытосеменных, «Мир», М., 1954.
3. Никитичева З. И. В кн.: Сравнительная эмбриология покрытосеменных, «Наука» I, Л., 1981, 84—90.
4. Никитичева З. И., Яковлев М. С., Плюш Т. А. Бот. жур. АН СССР, 66, 10, 1388—1398, 1981.
5. Романов И. Д. Эволюция зародышевого мешка цветковых растений, Докт. дисс., Ташкент, 1944.
6. Abele K. Archiv Bot., 7, 321—324, 1924.
7. Brown W. H. Bot. Gaz., 49, 189—195, 1910.
8. Campbell D. H. Ann. Bot., 15, 57, 103—118, 1901.

9. Fagerlind F. Ark. Bot., 29 A, 17, 1—15, 1939.
10. Fischer G. C. Bull. Torrey Bot. Club, 41, 3—4, 137—156, 221—241, 1914.
11. Jonson D. S. Amer. J. Botany, 1, 7—8, 323—339, 357—397, 1914.
12. Chiarugi A. Nuov. Giorn. bot. Ital., 34, 5, 1—133, 1927.
13. Langlet O. Svensk. Bot. Tidskr., 21, 478—485, 1927.
14. Martinoli G. Nuov. Giorn. bot. Ital., 55, 235—250, 1948.
15. Murty Y. S. J. Ind. Bot. Soc., 38, 1, 120—139, 1959.
16. Porsch O. Versuch einer Phylogenetischen Erklärung des Embryosackes und doppelten Befruchtung der Angiospermen., Jena, 1907.
17. Rutgers F. Ann. Gard. Bot. Buitenzorg., 33, 1—66, 1923.

#### PEPEROMIA REZEDIFLORA LINDEN ET ANDRE-ს

ჩანასახის პარკის ფორმირება

ბ. ღვალაძე

საქართველოს მეცნიერებათა აკადემიის ბოტანიკის ინსტიტუტი, თბილისი

რეზიუმე

შვეიცრიაში მკაროსპორი- და მკაროგამეტოგენეზის თანმიმდევრული პროცესები. ტიპური სურათი არ არის გამოკვეთილი ჩანასახის პარკის ფორმირების არც ერთ ფაზაში: ჩანასახის პარკის დედაუჯრედით დაწყებული და ჩანასახის პარკის საბოლოო კონსტრუქციით დამთავრებული,

ბული, ემბრიოლოგიური სურათი მეტად კრელი და ცვალებადია. ატიპურია ჩანასახის პარკის ელემენტების არა მარტო განლაგება, არამედ მათი წარმოქმნაცა და ფუნქციაც. ჩანასახის პარკის ფორმირების მთელი პროცესი ორგანიზაციის აშკარად გამოხატული დაბალი დონით ხასიათდება.

FORMATION PROCESS OF EMBRYO SAC IN *PEPEROMIA*  
*REZEDIFLORA* LINDEN ET ANDRE



G. E. GVALADZE

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

Summary

Consecutive processes of macrosporo- and macrogametogenesis were studied. At any phase of formation of the embryo sac there is no typical pattern: beginning with the mother cell of embryo sac to its final construction the embryologic pattern is variable. Atypic is not only the disposition of embryo sac elements but also their origin and function. The entire process of embryo sac formation is characterized by rather a low level of organization.

УДК 591.5:599.323.4

ЭКОЛОГИЯ

## МОРФОФИЗИОЛОГИЧЕСКАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА ЛЕСНОЙ МЫШИ (*SYLVIMUS SYLVATICUS* L.), РАСПРОСТРАНЕННОЙ В РАЗЛИЧНЫХ ЛАНДШАФТАХ ГРУЗИИ

Г. П. Енукидзе, Д. Г. Цкипуришвили, В. Н. Джихвашвили

Институт зоологии АН ГССР, Тбилиси

Институт кибернетики АН ГССР, Тбилиси

Поступила в редакцию 04.12.1981

Изучены популяции лесной мыши, распространенные в горных условиях Грузии: Ликанское и Банисхевское ущелья Боржомского заповедника и Ахалкалакское нагорье (Малый Кавказ). Эти районы расположены на разных высотах над уровнем моря и отличаются друг от друга как климатом, так и характером растительного покрова. Исследованы 133 особи по 10 морфологическим и морфофизиологическим признакам. При сравнительном анализе изменчивости признаков у трех популяций показан специфический характер приспособления лесной мыши к вышеуказанным ландшафтам.

В работе предлагается морфофизиологическая характеристика лесной мыши (*Sylvimus sylvaticus*), распространенной в различных ландшафтах Грузии с целью установления закономерностей приспособления ее к разным условиям среды обитания.

Исследована 51 взрослая особь (30♂:21♀), добытая в 1977—80 гг. в Ликанском ущелье Боржомского заповедника, 46 особей (22♂:24♀), добытых в Банисхевском ущелье того же заповедника, и 36 особей (14♂:22♀) с Ахалкалакского нагорья. Во всех случаях рельеф местообитаний горный.

Рельеф Ахалкалакского нагорья сложный и многообразный. Вулканического происхождения горные ответвления, находящиеся на разных высотах, изолируют этот край от влияния природных условий соседних краев и создают специфические климатические условия. Высота нагорья 1700—2200 м н. у. м. Климат суровый — короткое лето и продолжительная зима. Ранние морозы бывают уже в сентябре, а поздние — в июне. Снеговой покров продолжитель-

ный. Минимальная температура в январе ( $-26^{\circ}\text{C}$ ). Средняя годовая температура  $+15,5^{\circ}\text{C}$ . Годовое количество осадков 500—600 мм; максимальное количество их в июле, а минимальное — в январе.

Флора богатая и многообразная. Здесь представлены элементы флоры как Большого Кавказа, так и Южного нагорья. Большая часть территории — безлесье вторичного происхождения. Часть леса сохранилась на северо-западе. Материал добывался на территории Ахалкалакского и Богдановского районов у подножья села Эштия. Здесь фрагментарно насажены искусственные сосновые леса. Эти леса окружены богатым травянистым покровом и характерной для рельефа каменистой насыпью. Мышевидные грызуны гнездятся в основном здесь. Видовой состав позвоночных животных не богат.

Ликанская и банисхевская популяции находятся на территории Боржомского заповедника, интересного тем, что на значительно малой, со сложным рельефом, площади представлено большое многообразие климата и микроклимата. Местность го-

рястая. Навысшая точка над уровнем моря — 2200 м (Ломис мта), самая низкая — 800 м — Банисхевский лесной участок. Количество осадков 582—838 мм. С увеличением высоты количество осадков, как закон, увеличивается. Средняя годовая температура +17,4°C. Поздние морозы отмечены в мае [2, 3].

Большую часть площади заповедника занимают лиственные и хвойные леса. Многочисленны и разнообразны позвоночные животные.

Места сбора материала сильно отличаются природными условиями. Климат Ликанского ущелья относительно сухой, лес представлен чистыми группировками сосны. Банисхевское ущелье находится под влиянием влажного климата Западной Грузии. Микроклимат здесь более влажный, растительный покров отличен от Ликанского. Здесь преобладают элемен-

ты колхидского типа: бук, ель, каштан, мелкий орех, и (ввиду высокой влажности) вечнозеленые вечнозеленые растения и вечнозеленый подлесок [3].

Материал собран и обработан по методике, предложенной Институтом экологии растений и животных Уралского филиала АН СССР [5].

С тем, чтобы исключить возрастные изменения признаков в популяции, исследования проводились только на половозрелых особях, которые определялись по длине тела и соответствующему весу. Нижней границей этого показателя считали наименьший вес и длину тела особи, участвующей в размножении.

Показательно, что по наименьшему значению веса и длины тела у половозрелых особей ахалкалакская популяция резко отличается от боржомских. Длина и вес тела у ахалкалак-

Таблица 1

Статистические характеристики морфологических признаков лесной мыши (*Sylvimus sylvaticus*) в ахалкалакской (А), ликанской (Л) и банисхевской (Б) популяциях

Признак	Популяция	n	min—max	M ± m	σ	S	J <sub>q</sub>
Длина тела, мм	А	36	85—105	96,03 ± 0,784	4,70	4,90	94,49; 97,56
	Л	51	83—104	93,20 ± 0,659	4,70	5,05	91,90; 94,56
	Б	46	83—100	89,96 ± 0,703	4,77	5,31	88,58; 91,34
Длина хвоста, мм	А	36	88—107	99,47 ± 0,873	5,24	5,28	97,76; 101,18
	Л	51	85—110	97,98 ± 1,007	7,19	7,34	96,01; 99,96
	Б	45	78—105	91,67 ± 0,920	6,24	6,80	89,87; 93,48
Длина уха, мм	А	36	12—22	16,17 ± 0,296	1,78	11,02	15,58; 16,75
	Л	50	14—20	16,21 ± 0,180	1,28	7,93	15,86; 16,57
	Б	46	13—18	15,80 ± 0,223	1,51	9,58	15,37; 16,24
Длина задней ступни, мм	А	36	20—24	21,22 ± 0,159	0,96	4,52	20,91; 21,53
	Л	51	19—24	21,65 ± 0,172	1,23	5,68	21,31; 21,98
	Б	46	17—24	20,67 ± 0,208	1,41	6,84	20,26; 21,08
Вес тела, г	А	36	19,2—31,0	25,76 ± 0,467	2,81	10,89	24,88; 26,68
	Л	51	17,5—31,5	23,67 ± 0,521	3,73	15,74	22,65; 24,70
	Б	46	17,6—27,5	21,73 ± 0,404	2,74	12,63	20,93; 22,52
Вес селезенки, мг	А	36	50—300	142,78 ± 9,583	57,50	40,27	123,99; 161,56
	Л	51	50—270	115,94 ± 7,350	52,49	45,27	101,53; 130,35
	Б	43	50—600	112,80 ± 12,14	82,35	73,00	89,01; 136,60
Вес сердца, мг	А	36	100—300	181,67 ± 6,136	36,82	20,27	169,64; 193,69
	Л	51	120—250	172,25 ± 4,446	31,75	18,43	163,54; 180,97
	Б	46	120—220	156,30 ± 3,811	25,85	16,54	148,83; 163,77
Вес печени, мг	А	36	1000—2400	1601,4 ± 65,41	392,46	24,51	1473,18; 1729,59
	Л	51	720—2750	1375,1 ± 59,98	428,36	31,15	1257,53; 1492,66
	Б	46	800—2100	1272,6 ± 41,71	282,89	22,23	1190,86; 1354,36
Вес почек, мг	А	36	90—350	258,89 ± 12,91	77,45	29,92	233,59; 284,19
	Л	51	100—300	174,51 ± 5,822	41,58	23,83	163,09; 185,92
	Б	46	100—200	158,69 ± 4,110	27,88	17,57	150,64; 166,75
Длина слепой кишки, мм	А	36	38—65	50,83 ± 0,871	5,23	10,29	49,12; 52,54
	Л	51	29—66	51,39 ± 1,069	7,63	14,85	49,30; 53,49
	Б	45	30—75	49,85 ± 1,233	8,36	16,78	47,43; 52,26



ской популяции значительно выше, чем у боржомских, особенно по сравнению с банисhevской популяцией.

Исследованы следующие морфологические и морфофизиологические признаки: длина тела, хвоста, уха, задней ступни, слепой кишки, вес тела, селезенки, сердца, печени, почек.

В табл. 1 даны статистические характеристики наблюдаемых значений вышеперечисленных признаков лесной мыши в ахалкалакской (А), ликанской (Л) и банисhevской (Б) популяциях;  $n$  — объем выборки,  $m$  и  $max$  — значения признака в данной

при  $q=5\%$  уровне значимости, что соответствует 95% надежности.

Согласно таблице, средние значения исследуемых признаков в ахалкалакской популяции значительно выше, чем в банисhevской. Ликанская же популяция занимает промежуточное между ними положение.

Проверена гипотеза о равенстве средних значений исследуемых признаков. Результаты этой проверки даны в табл. 2. В последней графе знаком плюс (+) обозначается случай, когда гипотеза о равенстве средних принимается ( $|t| \leq t_{q,k}$ ), а знаком ми-

Таблица 2

Достоверность различий морфофизиологических признаков в ахалкалакской (А), ликанской (Л) и банисhevской (Б) популяциях лесной мыши *Sylvivmus sylvaticus*

Признак	Популяция	M	Сравнимые популяции	t	t  < $t_{q,k}$ *  t  > $t_{q,k}$
Длина тела, мм	А	96,03	АЛ	2,731	—
	Л	93,20	ЛБ	3,326	—
	Б	89,96	БА	5,680	—
Длина хвоста, мм	А	99,47	АЛ	1,048	+
	Л	97,98	ЛБ	4,540	—
	Б	91,67	БА	5,945	—
Длина уха, мм	А	16,17	АЛ	0,147	+
	Л	16,22	ЛБ	1,431	+
	Б	15,80	БА	0,982	+
Длина задней ступни, мм	А	21,22	АЛ	1,713	+
	Л	21,65	ЛБ	3,585	—
	Б	20,67	БА	1,969	—
Вес тела, г	А	25,76	АЛ	2,809	—
	Л	23,67	ЛБ	2,875	—
	Б	21,73	БА	6,464	—
Вес селезенки, мг	А	142,78	АЛ	2,231	—
	Л	115,94	ЛБ	0,223	+
	Б	112,80	БА	2,835	—
Вес сердца, мг	А	181,67	АЛ	1,259	+
	Л	172,25	ЛБ	2,667	—
	Б	156,30	БА	3,614	—
Вес печени, мг	А	1601,39	АЛ	2,482	—
	Л	1375,10	ЛБ	1,360	+
	Б	1272,61	БА	4,350	—
Вес почек, мг	А	258,89	АЛ	6,180	—
	Л	174,51	ЛБ	2,153	—
	Б	158,69	БА	8,027	—
Длина слепой кишки, мм	А	50,83	АЛ	0,375	+
	Л	51,39	ЛБ	0,940	+
	Б	49,85	БА	0,611	+

\*  $t_{q,k} = 1,960$

выборке,  $M$  — средняя арифметическая наблюдаемых значений признака,  $m$  — ошибка средней арифметической,  $\sigma$  — среднее квадратическое отклонение,  $C$  — коэффициент вариации,  $J_q$  — доверительный интервал

нус (—) — случай, когда гипотеза отвергается ( $|t| > t_{q,k}$ ). Принятие гипотезы интерпретируется как совпадение средних значений, а отвержение — как несовпадение. Заметим, что

$$t = \frac{M_1 - M_2}{\sqrt{n_1 \sigma_1^2 + n_2 \sigma_2^2}} \cdot \sqrt{\frac{n_1 \cdot n_2 (n_1 + n_2 - 2)}{n_1 + n_2}}$$

а  $t_{q,k} = 1,960$  для всех сравнений, так как число степеней свободы  $k = n_1 + n_2 - 2 > 30$ .  $q = 5\%$  [4].

Согласно табл. 2, вышеотмеченные различия в средних значениях признаков между ахалкалакской и банисхевской популяциями достоверны для всех признаков, кроме длины уха и длины слепой кишки. Для этих последних имеющиеся различия несущественны и их средние значения можно считать равными во всех трех популяциях.

Занимая промежуточное положение между ахалкалакской и банисхевской популяциями, ликанская, кроме указанных двух, имеет еще три признака (длина хвоста, длина задней ступни, вес сердца), равных по средним значениям ахалкалакской, и два других (вес селезенки, вес печени), равных банисхевской популяциям. Итак, у ликанской популяции 5 признаков, равных ахалкалакской, и 4 признака — банисхевской популяциям (табл. 2).

Согласно таблице, самыми стабильными признаками оказались длина уха и слепой кишки, а самыми изменчивыми длина тела, вес тела и вес почек, средние значения которых различны для всех трех популяций. Эти различия достоверны. Максимальное значение признаков наблюдалось у ахалкалакской популяции, минимальное — у банисхевской.

Интерес вызывает тот факт, что, несмотря на резкое отличие в харак-

тере и составе пищевого рациона, в зависимости от ландшафта длина слепой кишки остается одинаковой во всех трех популяциях. Из систематических признаков не меняется также только длина уха.

Анализ изменчивости признаков по коэффициенту вариации показывает, что наивысшей вариабельностью отличается вес внутренних органов (селезенки, печени, почек, сердца), низшей — длина тела и задней ступни. Коэффициенты вариаций признаков по величине в основном проявляют одинаковую последовательность во всех трех популяциях (табл. 1).

Таким образом, изменчивость морфологических и морфофизиологических признаков трех популяций, выявленная в сравнительном их анализе, показывает специфический характер приспособления лесной мыши к вышеуказанным ландшафтам. При этом изменчивость наглядно представлена не только в разных ландшафтах, но и в разных стадиях одного и того же ландшафта. Процесс приспособления исследуемых популяций к разным условиям обитания протекает в соответствии с общими закономерностями приспособления мелких млекопитающих к горным условиям [1]. По мере повышения высоты над уровнем моря естественный отбор работает в пользу популяций, состоящих из более крупных особей, характеризующихся более крупными внутренними органами. Ахалкалакская популяция наглядный тому пример.

## ЛИТЕРАТУРА

1. Большаков В. Н. Пути приспособления мелких млекопитающих к горным условиям, «Наука», М., 1972, 159—166.
2. Гулисашвили В. З. Природные зоны и естественно-исторические области Кавказа, «Наука», М., 1964, 274—276.
3. Маруашвили Л. И. Физическая география Грузии (на груз. языке), II, «Гаталба», Тбилиси, 1970, 311—318.
4. Смирнов Н. В., Дунин-Барковский И. В. Курс теории вероятностей и математической статистики, «Наука», М., 1965, 233—263.
5. Шварц С. С., Смирнов В. С., Добринский Л. Н. Метод морфофизиологических индикаторов в экологии наземных позвоночных, Свердловск, 1968.



УДК 576.858.9:576.851.48

МИКРОБИОЛОГИЯ

## БИОЛОГИЧЕСКАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА НОВОГО ДОНОРСПЕЦИФИЧЕСКОГО БАКТЕРИОФАГА

М. А. Дарсавелидзе, Ж. С. Капанадзе, Т. Г. Чанишвили

Тбилисский НИИ вакцин и сывороток МЗ СССР

Поступила в редакцию 30.09.1982

Исследованы биологические признаки бактериофага Ri-3, выделенного из сточных вод в 1981 г. На основании активности фага только на клетках F<sup>+</sup> и Hfr штамма *E. coli* K<sub>12</sub>, характера негативных колоний, ультраструктуры вириона и его размеров, адсорбции на пилках клеток хозяина, времени латентного периода и величины урожая из одной инфицированной клетки клон отнесен к группе малых сферических бактериофагов (РНК бактериофагов).

За последние десятилетия фаги, содержащие в качестве единственного генетического материала рибонуклеиновую кислоту (РНК), стали объектом интенсивных исследований [23, 9].

Помимо значения РНК-фагов, как удобной модели для изучения взаимодействия РНК-содержащих вирусов с клеткой хозяина, эти объекты представляют большой интерес для решения ряда вопросов молекулярной биологии, в частности для исследования простейших механизмов пере-

дачи наследственного кода непосредственно от РНК на белок.

К настоящему времени известно свыше 40 представителей РНК-бактериофагов. Все они, как по строению, так и по свойствам, близки между собой и относятся к классу малых сферических бактериофагов. Их можно разделить на три или четыре более или менее четко различающиеся серологические группы [26, 24].

Обнаружение и сравнительное изучение каждого нового РНК-бактериофага и составляло цель наших исследований.

### МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

В опытах были использованы: фаги Ri-3, MS2, fr, f<sub>2</sub>; бактериальные штаммы *E. coli* — перемиссивные (*E. coli* K<sub>12</sub> SF<sup>+</sup>, *E. coli* S 26, *E. coli* Hfr cav), неперемиссивные (*E. coli* JC<sub>411</sub>), разных серотипов — 137; 675 штаммов разных родов семейства *Enterobacteriaceae*.

Бактериофаг Ri-3 выделен нами из сточных вод в 1981 году.

Эталонные штаммы *E. coli* и фаги MS2, fr, f<sub>2</sub> получены из ВНИИ генетики и селекции промышленных микроорганизмов; остальные — из разных лабораторий ТбилНИИВС.

Общие методы работы с фагом заимствованы из книги Адамса [1].

Для получения специфических антифаговых сывороток кроликов иммунизировали внутримышечно путем введения 0,5 мл фага с титром 10<sup>11</sup>, соединенного с 200 г латекса в масляной смеси. Через 30 дней кроликам повторно вводили внутривенно то же количество антигена без адьюванта. Кровь брали через 10 дней после последней иммунизации. Метод получения сыворотки заимствован из работы К. К. Гачециладзе с соавторами [2].



## РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Для выделения из сточных вод фагов, активных в отношении  $F^+$ -клеток штамма *E. coli*  $K_{12}$ , использована методика обогащения среды соответствующим штаммом.

Предварительно проводились исследования по электронно-микроскопическому уточнению наличия пилей (половых ворсинок) у взятого в опыт штамма. Согласно полученным электроннограммам для клеток *E. coli*  $K_{12}$   $SF^+$  характерно наличие некоторого количества длинных ворсинок, отходящих от поверхности.

Выделено было 9 активных фаголизатов, обозначенных: Ri-1, Ri-2, Ri-3 и т. д., один из которых, а именно Ri-3, был детально исследован.

На штамме *E. coli*  $K_{12}$   $SF^+$  Ri-3 фаг образовывал мелкие, несколько мутные негативные колонии диаметром до 1 мм (рис. 1).

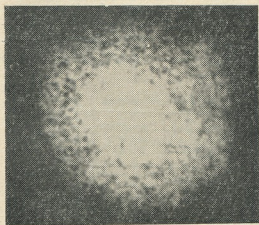


Рис. 1. Негативные колонии фага Ri-3.  $\times 65$

Фаг оказался инфекционным для штаммов только  $F^+$  и  $Hfg$  и не давал титра на неперемиссивном штамме *E. coli* JC 411 (табл. 1).

вирионы представляют собой икосаэдр и имеют гексогональную форму на плоскости (рис. 2). Капсид фага имеет размеры 220—250 Å.

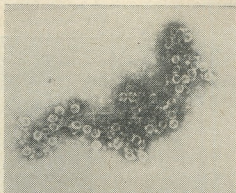


Рис. 2. Частицы фага Ri-3, уранилцетат.  $\times 175\ 000$

Анализ результатов опытов по адсорбции фага Ri-3 на клетках штамма-хозяина показывает, что реакция протекает по типу реакций первого порядка. В табл. 2 сведены средние данные 3—4 опытов по определению всех этапов инфекционного цикла бактериофага Ri-3, позволяющего заключить, что время максимальной адсорбции его на клетках хозяина составляет 20 мин. Процент максимальной адсорбции — 90.

В разное время процесса адсорбции пробы зараженных бактериальных клеток были фиксированы и после соответствующей обработки исследованы в электронном микроскопе (рис. 3).

Оказалось, что исследуемый фаг прикрепляется при адсорбции по сторонам  $F$ -пилей штамма *E. coli*  $K_{12}$   $SF^+$ , что свидетельствует об их высо-

Определение активности бактериофага Ri-3

Таблица 1

Штамм	Титр фага	Относительная эффективность посева
<i>E. coli</i> $K_{12}$ $SF^+$	$2,5 \cdot 10^8$	1
<i>E. coli</i> $S_{26}$	$1,2 \cdot 10^8$	0,5
<i>E. coli</i> $Hfg\ cav$	$2,2 \cdot 10^8$	9,1
<i>E. coli</i> JC 411	0	0

Исследованием частиц фага в электронном микроскопе установлено, что

ком средстве к этим бактериальным структурам. Как видно из рисунка,

на одном пиле адсорбируется множество фаговых частиц.

Продолжительность внутриклеточного развития у данного фага составляла 45 мин (табл. 2). По истечении данного времени происходил лизис клетки и освобождение фагового потомства.

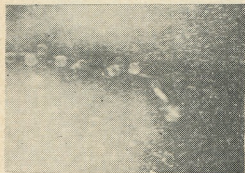


Рис. 3. Адсорбция фага Ri-3 на клетках хозяина, уранилацетат.  $\times 201\ 000$

В опытах с выходом фага из одной инфицированной клетки, поставленных методом Бернета [7], наблюдались

Путем иммунизации кроликов фагом Ri-3 была получена антифаговая сыворотка. Реакция нейтрализации была поставлена как с гомологичным, так и с гетерологичным бактериальными вирусами: MS2,  $i_1$ ,  $i_2$ . Константа инактивации высчитывалась по общеизвестной формуле [1]. Для удобства сопоставления полученных данных результаты учитывались не только выведением констант, но также определением процента нейтрализации гетерологичных фагов; при этом константа нейтрализации с гомологичным фагом принималась за 100% (табл. 3).

Колебание константы инактивации у этих фагов составляло от 100 до 1,6%.

Диапазон литической активности фага Ri-3 был исследован на штаммах различных видов семейства *Enterobacteriaceae* (табл. 4).

Как следует из данных, представленных в табл. 1 и 4, фаг Ri-3 обладал высокой специфичностью только

Таблица 2  
Определение фаз взаимодействия фага Ri-3 с клетками хозяина

Фаг	Штамм	Адсорбция			Латентный период в мин	Средняя урожайность
		Максимальное время в мин	%	Константа		
Ri-3	<i>E. coli</i> K <sub>12</sub> SF <sup>+</sup>	20	90	$5,7 \cdot 10^{-10}$	45	1470

довольно значительные различия в количестве потомства фага от 200 до 1700 инфекционных единиц. Средний

в отношении F<sup>+</sup>-клеток штамма *E. coli*, что позволило рекомендовать данный клон как трассер в эпидемио-

Таблица 3  
Нейтрализация РНК-содержащих фагов антисывороткой к Ri-3

Фаг	АФС к Ri-3	
	K <sub>50</sub> в мин	%
Ri-3	2198,8	100
MS 2	505,61	23
$i_2$	428,8	20
$i_1$	34,27	1,6

урожай фага Ri-3, рассчитанный методом Эллис и Дельбрюк [11], составлял 1470 на клетку (табл. 2).

логических опытах для исследования путей распространения загрязняющих веществ.

Путем анализа полученных результатов и сопоставления их с данными других исследователей [15, 10, 17, 24], выделенный нами фаг Ri-3 можно отнести к группе РНК-содержащих бактериальных вирусов. На это указывают характерные негативные колонии только на F<sup>+</sup> и Hfr штаммах [13, 4], ультраструктура вириона и его размеры, способность заражать клетки бактерий-хозяев путем адсорбции частиц как на поверхности бактерий, так и по всей длине фимбрий — пилей.

Натаус с соавт. [18], РНК, введенная фагом в поражаемую клетку, одновременно выполняет роль матрицы для редупликации фагового генома и несет в себе программу для синтеза ранних фаговых белков — РНК-синтеза [27, 28] и белков капсида фагового вириона [18].

Различают несколько стадий инфекций, в результате которых фаговая РНК проникает в клетку и начинает цикл репликации. Во время первой стадии — адсорбции — фаговые частицы прикрепляются к отросткам кле-

Таблица 4

Спектр литического действия фага Ri-3

<i>E. coli</i> (патогенные, разных серо- групп)	<i>Salmonella</i> (разных видов)	<i>Shigella</i> (разных видов)	<i>Proteus</i> (разных видов)	<i>Pyocyaneus aeruginosae</i>
К о л и ч е с т в о				
208	45	265	45	20
—	—	—	—	—

Частицы вириона Ri-3, также как и описанные в литературе РНК-фаги, MS<sub>2</sub> [10], i<sub>2</sub> [16], R<sub>17</sub> [19], fr [17], Qβ [22] и т. д. относятся ко II морфологическому типу по классификации Тихоненко А. С. [5].

Несмотря на малые размеры (колебание размера величины головки составляет 220—250 Å), капсид этих фагов построен из хорошо различных капсомеров. И хотя принято считать, что у РНК-фагов нет отростка, у ряда из них (MS<sub>2</sub>, fr, V<sub>6</sub>, V<sub>7</sub>) удалось различить короткий отросток [6], отходящий от одной из вершин икосаэдра.

Считается, что прикрепление частиц фагов к фимбриям штаммов F<sup>+</sup> осуществляется при помощи этих отростков. РНК-фаги неспособны адсорбироваться на клетках, лишенных фимбрий [25], в связи с чем авторы полагают, что эти фаги передают инфекционное начало поражаемой клетке через фимбрию.

Репликация РНК-фагов полностью осуществляется в цитоплазме, независимо от клеточного нуклеотида [8, 5]. Как отмечает Давис с соавт. [10],

ток F-pili. Места прикрепления РНК-фагов расположены по сторонам F-pili. На одном отростке F-pili сорбируется множество фаговых частиц, но в клетку проникает лишь ограниченное количество инфекционных фаговых РНК. Адсорбция фагов обратима, и, в отличие от последующих стадий, протекает также при пониженной температуре, не требуя присутствия двухвалентных ионов металлов.

РНК-фаги характеризуются обычно 25—35-минутным латентным периодом, после которого появляются первые внеклеточные фаговые частицы. Цикл размножения заканчивается на 50—60-й мин полным лизисом зараженных клеток [3, 12]. Внутриклеточный фаг можно констатировать уже на 15-й мин после начала инфекции, а в конце цикла каждая зараженная клетка образует в среднем 2000—4000 фаговых частиц. Сравнительное изучение размножения различных РНК-бактериофагов показало довольно большие различия между отдельными их представителями. Латентный период составляет для фага i<sub>2</sub> — 27

мин, Q $\beta$  — 30 мин, R<sub>23</sub> — 40 мин, R<sub>34</sub> — 44 мин, Ri-3 — 45 мин. Выход фаговых частиц из одной клетки для i<sub>2</sub> — 1500, Q $\beta$  — 1300, R<sub>34</sub> — 3800, R<sub>23</sub> — 10 000, Ri-3 — 1470.

Все до сих пор выделенные РНК-фаги по серологическим свойствам можно разделить на три или четыре четко различающиеся серологические группы [21, 26, 20, 14, 24]. Исследования иммунологических реакций показывают, что сходство или различия между отдельными РНК-фагами связаны со сходством или различиями в аминокислотной последовательности белка оболочки фагов [3].

Сопоставляя полученные результаты серологического исследования фагов, можно заключить, что выделен-

ный нами клон Ri-3 не проявлял близкого родства ко взятым в опыт РНК-фагам. Условно можно считать, что бактериальные вирусы MS<sub>2</sub> и i<sub>2</sub> давали слабую, а i<sub>g</sub> — очень слабую перекрестную нейтрализацию с сывороткой к фагу Ri-3.

Установлено, что РНК-фаги строго специфичны и лизируют только мужские варианты клеток. Это положение полностью подтвердилось нашими исследованиями.

Определение диапазона литического действия фага Ri-3 было проведено на 900 штаммах семейства *Enterobacteriaceae*. Фаг проявлял активность только на штаммах *E. coli* K<sub>12</sub> SF<sup>+</sup>, *E. coli* S 26 и *E. coli* Hfr cav.

#### ЛИТЕРАТУРА

1. Адамс М. Бактериофаги, ИЛ, М., 1961.
2. Гачечиладзе К. К., Кретова А. Ф., Беспалова И. А., Чанишвили Т. Г., Андриашвили И. А., Тихоненко А. С. Мол. биол., 14, 2, 375—379, 1980.
3. Грен Э. Я. Регуляторные механизмы репликации РНК-содержащих бактериофагов, «Зинатне», Рига, 1974.
4. Стент Р., Кэлиндар Р. Молекулярная генетика, «Мир», М., 1981.
5. Тихоненко А. С. Биофизика, 6, 372—375, 1961.
6. Тихоненко А. С., Беспалова И. А., Кривиский А. С. ДАН СССР, 160, 704—708, 1965.
7. Burnet F. M. Brit. J. Exp. Path., 10, 109, 1929.
8. Cooper S., Zinder N. Virology, 18, 405, 1962.
9. Суба Тадаёси, Мияке Тадаси. Virus, 28, 52, 1978.
10. Davis J., Strauss J., Sinsheimer R. Science, 134, 1427, 1961.
11. Ellis E., Delbrück M. J. Gen. Physiol., 22, 965, 1939.
12. Franklin R., Granbullan N. J. Bacteriol., 91, 834, 1966.
13. Hofschneider P. Naturforsch., 186, 203, 1963.
14. Krueger R. J. Virol., 4, 567, 1969.
15. Loeb T. Science, 131, 932, 1960.
16. Loeb T., Zinder N. Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 47, 282, 1961.
17. Marvin D., Hoffman-Berling D. Nature, 197, 517, 1963.
18. Nathans D., Notani G., Schwartz J., Zinder N. Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 48, 1424, 1962.
19. Paranchych W., Graham A. J. Cell. Comp. Physiol., 60, 199, 1962.
20. Sakuzi T. Jap. J. Microbiol., 12, 544, 1968.
21. Scott D. Virology, 26, 85, 1965.
22. Silverman P., Mobach H., Valentine R. Biochem. Biophys. Res. Commun., 27, 412, 1967.
23. Szafiranski P. Kosmos (PRK), 27, 361, 1979.
24. Tsushida N., Nonoyama M., Ikeda I. J. Gen. Appl. Microbiol., 17, 63, 1971.
25. Valentine R., Strand M. Science, 148, 511, 1965.
26. Watanabe I., Miyake T., Sakuzai T., Shiba T., Ohno T. Proc. Jap. Acad. Sci., 43, 204, 1967.
27. Weissmann C., Borst D. Science, 142, 1188, 1963.
28. Weissmann C., Borst D., Simon I., Ochoa S. Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 49, 407, 1963.



მ. დარსაველიძე, ჯ. კაპანაძე, თ. ჯანიშვილი

სსრკ ჯანმრთელობის დაცვის სამინისტროს თბილისის ვაქცინებისა და  
შრატების სამეცნიერო-კვლევითი ინსტიტუტი

## რ ე ზ ი უ მ ე

შესწავლილ იქნა ჩამდინარე წყლიდან  
1981 წელს ჩვენს მიერ გამოყოფილი Ri-3  
ბაქტერიოფაგის ბიოლოგიური თვისებები.

*E. coli* K-12 შტამის F<sup>+</sup> და Hfr უჯ-  
რედების მიმართ ფაგის აქტივობის საფუ-  
ძველზე, დამახასიათებელი ნეგატიური  
კოლონიის არსებობის გამო, ვირიონის  
ულტრასტრუქტურისა და მისი ზომების

მიხედვით, პატრონ-უჯრედის „სქესოვან  
ბუსუსებზე“ ადსორბციის გამო, ლატენ-  
ტური პერიოდის ხანგრძლივობის გათვა-  
ლისწინებით და ფაგების მოსაველიანობის  
მიხედვით ერთი ინფიცირებული უჯრედი-  
დან მიღებული კლონი უნდა მიეკუთვნე-  
ნოთ მცირე სფეროსებური (რნმ შემცვე-  
ლი) ბაქტერიოფაგების ჯგუფს.

## BIOLOGICAL CHARACTERISATION OF THE NEW DONORSPECIFIC BACTERIOPHAGE

M. A. DARSVELIDZE, ZH. S. KAPANADZE, T. G. CHANISHVILI

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

### S u m m a r y

The biological properties of bacterio-  
phages Ri-3, isolated from sewage in  
1981, were investigated. On the basis of  
the phage activity in the cell lines F<sup>+</sup>  
and Hfr of *E. coli* strain K<sub>12</sub>, the charac-  
ter of negative colonies, the ultrastruc-

ture of virion and its sizes, the adsorption  
to the host cell pilus, the latent period  
and the amount of the harvest from one  
infected cell, the clone is attributed to  
small spherical bacteriophages (RNA pha-  
ges).

УДК 616.981.252—092:612.017.1—07

ИММУНОЛОГИЯ

## ИММУНОЛОГИЧЕСКИЙ МЕТОД БЫСТРОГО ВЫЯВЛЕНИЯ СТАФИЛОКОККОВОГО АНТИГЕНА

О. В. Микаберидзе, С. А. Ригвава, И. А. Георгадзе, Т. Г. Чанишвили,  
Н. С. Гамреклидзе

*Тбилисский НИИ вакцин и сывороток МЗ СССР  
Родильный дом № 5, Тбилиси*

Поступила в редакцию 18.01.1982

На эритроцитарной основе получен новый препарат для экспресс-диагностики стафилококковых инфекций. Диагностикум позволяет выявлять в сыворотке крови или в другой исследуемой жидкости до 25 тыс. стафилококков (или его фрагментов). Основным действующим началом является противостафилококковый гамма-глобулин, полученный из гипериммунной лошадиной (или кроличьей) сыворотки, адсорбированный на стабилизированных бараньих эритроцитах и обеспечивающий высокую серологическую активность и специфичность препарата в реакции пассивной геммагглютинации (РПГА).

В настоящее время все чаще встречаются инфекционные поражения, в которых ведущая роль принадлежит стафилококкам. В литературе имеются сообщения, что при септических состояниях у больных из крови высеваются не только патогенные стафилококки, но и такие, которые не обладают одним из главных классических признаков патогенности — плазмокоагулазой. Регистрированы также факты наличия стафилококкового антигена в крови клинически здоровых людей. Стафилококковая бактериемия отмечается у больных с послеродовым инфекционным осложнением [1, 9]. Ослабление защитных сил организма приводит к снижению иммунологической реактивности организма, что обуславливает хроническое течение септического процесса [4, 15].

Известно, что при бактериологических исследованиях патологического материала не всегда удается выделить истинный возбудитель заболевания. Неопределенные сведения имеются относительно реакции агглютинации с аутоштаммом стафилококка. Нет также единого мнения о диагностическом значении внутрикожной пробы

с аллергеном гемолитического стафилококка.

Во многих клиниках страны начинают внедряться эритроцитарные антигенные диагностикумы для определения уровня противостафилококковых антител. В этих препаратах в качестве сенситинов использованы как анатоксины или токсины [2, 8], так и антигены из бактериальных фрагментов [3].

Эти препараты, при всей их высокой активности, обладают двумя недостатками, сопутствующими эритроцитарным антигенным диагностикумам. Во-первых, при стафилококковом сепсисе у больного с иммунным дефицитом по В-системе невозможно регистрировать повышение специфических антител. Во-вторых, у новорожденных и больных с крайне тяжелыми формами сепсиса (с летальным исходом) титры антител невелики и практически находятся на уровне фоновых.

Существующие антительные эритроцитарные диагностикумы [10] основаны на индикации белка А стафилококков с помощью Fe-фрагмента, адсорбированного на эритроцитах различными методами. Разрешающая спо-

способность таких препаратов не превышает 6—12 млн/мл.

В данной работе поставлена задача создания препарата для выявления

стафилококков в исследуемом материале за короткий отрезок времени (2—5 часов).

## МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ

В качестве адсорбента были использованы эритроциты барана, формализированные по Маянскому с соавт. [7] с некоторыми модификациями.

Противостафилококковую сыворотку получали на кроликах породы шиншилла, а также на лошадях. Животным предварительно проводили грундирующее. Спустя 3—4 недели, начинали иммунизацию путем подкожного введения антигена. Кроликам каждые 5 дней вводили стафилококк — 2 млрд. взвесь в объеме 0,5 мл. После третьей инъекции параллельно внутривенно вводили микробную суспензию в количестве  $10 \cdot 10^7$  клеток. Цикл иммунизации состоял из 6 инъекций. По достижении определенного титра антибактериальных антител проводили тотальное кровопускание.

Лошадей гипериммунизировали 5 млрд. культуры стафилококка с 7-дневным интервалом. Первый цикл: начальная доза — 10 мл, вторая — 20 мл, третья — 40 мл. Затем проводили второй цикл гипериммунизации: начальная доза — 20 мл, вторая — 40 мл, третья — 50 мл. На 7-й день

после заключительной дозы антигена у лошадей брали кровь.

Для иммунизации животных использовали инактивированные нагреванием 25 различных штаммов стафилококка, полученных из производственного отдела ТбилНИИВС. Микроорганизмы представляли собой патогенные штаммы стафилококков с плазмокоагулирующими и лейкоцидинпродуцирующими свойствами.

Гамма-глобулиновую фракцию из гипериммунной противостафилококковой сыворотки получали метиловым осаждением по Дюберу с соавт. [13].

В качестве стабилизатора полуфабриката при лиофильном высушивании использовали желатозо-сахарозную среду. После разведения в указанной среде препарат сразу замораживали при  $-40$ ,  $-45^\circ\text{C}$ . Сушка проводилась в следующем режиме: температура в аппарате  $16-20^\circ$  ниже нуля; вакуум  $20-30^{-3}$  мм рт. ст.; повышение температуры до  $+2-+4^\circ\text{C}$  в течение 6—8 ч. Затем температуру медленно поднимали (в течение 10—12 ч) до  $25-28^\circ\text{C}$ ; экспозиция при этом составляла 6—7 ч.

## РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

Одним из важных этапов при изготовлении стандартного диагностического препарата является фиксация нестабильного носителя — нативных эритроцитов. Фиксация или стабилизация эритроцитов достигается различными альдегидами (ацетальдегид, формальдегид, акроленовый, глютаровый), четырехокисью осмия и др.

В работе использован формальдегид ( $\text{CH}_2\text{O}$ ) в различных концентрациях. Опыты показали, что при обработке бараньих эритроцитов низкими (менее 5%) концентрациями формальдегида специфическая активность диагностикума была выше, чем при использовании глубокого метода формализации (более 10% формальдегида).

Выбор метода стабилизации во

многом определяет ценность получаемого препарата даже при наличии антигенов или антител с наилучшими чувствительными качествами. Каральник с соавт. [6] провел сравнительное изучение различных методов стабилизации эритроцитов (по Вайнбаху, Фили, Чизмесу в модификации Меньшова и Шмутера, Бингу и Чену). Установлено, что при наличии стандартного белкового сенситина наилучшие результаты (по активности диагностикума) были получены при обработке эритроцитов ацетальдегидом по Чену. Однако, по-видимому, эти данные не являются закономерными для всех сенситинов.

Многие исследователи, которые отдавали предпочтение тому или иному методу стабилизации эритроцитов,

приходят к заключению, что для каждого сенситина, полисахаридной или белковой природы, необходимо подбирать тот метод консервации, который будет характеризоваться лучшими показателями.

ализом против физиологического раствора.

Существует мнение, что сенсibilизация танализованных эритроцитов кроличьими иммуноглобулинами приводит к неспецифической агглютина-

Таблица 1

Сравнительное испытание диагностикумов

Метод сенсibilизации	Титр в РПГА (тыс. микробных тел в мл)						
	800	400	200	100	50	25	12,5
Бойдена, модифицированный	++++	++++	++++	++++	++++	+++	++
Яндл, Симмонса	+++	-	-	-	-	-	-
Контрольные эритроциты	-	-	-	-	-	-	-

В наших экспериментах проведено сравнительное изучение метода Чизмеса с модифицированным методом Маянского с соавт. [7]. Последний, по нашему мнению, обеспечил получение наиболее активных опытных серий стафилококкового антительного диагностикума.

В связи с этим для удаления гемагглютининов проводили двойную адсорбцию гипериммунной сыворотки эритроцитами той серии, которая применялась при изготовлении препарата. Наряду с этим, использовали импортный чистый танин, не вы-

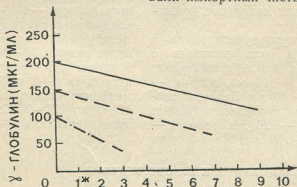


Рис. 1. Зависимость активности антительного стафилококкового диагностикума от величины нагрузки эритроцитов гамма-глобулинами. 1\* — начальное разведение — 6 млн. микробных тел в 1 мл; каждая последующая цифра показывает двукратное уменьшение концентрации микробов по сравнению с предыдущей

Ключевым моментом при конструировании диагностикумов является выбор оптимальных условий сенсibilизации, взаимодействия эритроцитов с сенситинами.

Гамма-глобулин для сенсibilизации формализированных и обработанных танином (1:22000) эритроцитов извлекали из антибактериальной противостафилококковой гипериммунной сыворотки путем ее осаждения метанолом и дальнейшей очисткой ди-

звующий спонтанной гемагглютинации.

Сенсibilизацию эритроцитов гамма-глобулином проводили методами Бойдена с некоторыми изменениями и Яндл и Симмонса — с помощью хлорида хрома [14].

Сравнительное испытание диагностикумов, изготовленных указанными методами, выявило, что препараты, полученные по Бойдену в нашей модификации, были активными и выяв-



ляли меньшее количество микробов, чем диагностикумы по Яндл и Симмонсу [14] (см. табл. 1).

Процесс сенсибилизации эритроцитов белками представляет собой сложный механизм взаимодействия сенситина и адсорбента, количественная характеристика которого все еще не полностью изучена.

Установлено, что оптимальная гемосенсибилизация зависит от концентрации сенситина, длительности сенсибилизации, температуры, pH-раствора и др. Показано, что процесс сенсибилизации при любом насыщении эритроцитарной суспензии сенситином может быть описан уравнением Ленгмюра:  $y = \frac{Rax}{1+ax}$ , где  $y$  — титр

РПГА или количество прочно связанного сенситина;  $x$  — концентрация сенситина;  $R$  и  $a$  — коэффициенты [5].

Сенсибилизация танизированных эритроцитов проводилась по оптимальной дозе гамма-глобулина, установленной в результате предварительной оттитровки диализованного глобулина. Экспозиция в водной бане составляла 2 ч при 37°C. Для фиксации антител на рецепторах эритроцитов к суспензии добавляли формалин. С целью экранировки оставшихся свободных рецепторов эритроцитов их отмывали инaktivированной нормальной лошадиной сывороткой.

Известно, что каждый эритроцит своей минимальной поверхностью может связать 335—345 тыс. молекул белка, оставляя при этом свободной 89% поверхности клетки, а при связывании максимальным сечением — 53—55% [5]. В этой связи представляет интерес выяснение вопроса, как молекула антитела фиксируется на липидной поверхности клетки. Логично допустить, что захватывая комплементарный антиген выдвинутыми активными центрами, молекула иммуноглобулина посредством химических связей должна быть прикреплена к эритроциту с помощью Fc-фрагмента. Однако данные, полученные за последние годы, ставят под сомнение такое допущение [10]. Именно указанный фрагмент служит в качестве индикатора стафилококков, белок А

которых обладает рецептором для Fc-фрагмента. Если этот фрагмент экранирован рецептором клетки, то каким же образом он соединится с рецептором белка А? Очевидно, у константного фрагмента антитела имеется свободный участок, ответственный за соединение с рецептором антигена.

На рис. 1 приводятся данные о серологической активности сухого антигенового диагностикума. Эксперименты показали, что активность препарата зависит от дозы гамма-глобулина, которым нагружаются танизированные эритроциты, при одинаковых условиях температуры и длительности экспозиции. Оптимальная доза гамма-глобулина, при котором выявлялось наименьшее количество (25 тыс. микробных тел в мл), составила 200 мкг/мл.

В РПГА исследовали экстракт внутренних органов (печень, легкие, селезенку) экспериментальных животных, которым вводили свежую культуру из пяти патогенных штаммов стафилококка. Во всех перечисленных объектах был обнаружен микроб, причем наиболее четкие результаты дали пробы из экстракта легких. Аналогичные пробы у интактных мышей (контроль) дали отрицательную реакцию.

Проведены также предварительные опыты по исследованию сывороток больных, подозреваемых на сепсис. Из них более чем у 80% был выявлен стафилококк. Необходимо отметить, что некоторые пробы (около 6%), где была получена положительная реакция в РПГА, при засеве в питательные среды оказались стерильными. По-видимому, положительный результат в данном случае связан с персистенцией в сыворотке больных фрагментов или крупных осколков стафилококков.

Таким образом, разработанный новый препарат — антительный эритроцитарный противостафилококковый диагностикум — обладает высокой разрешающей способностью и может быть с успехом применен для идентификации стафилококков и экспресс-диагностики стафилококковых поражений.



1. Аккерман Л. И. Клинические особенности послеродовых инфекционных заболеваний в условиях широкого применения антибиотиков и основы рационального их лечения, Канд. дисс., М., 1974.
2. Гаптаров Г. М. В сб.: Препараты для специфической диагностики, профилактики, терапии заболеваний, вызванных условно-патогенными бактериями, М., 1978, 82—83.
3. Георгадзе И. А., Бубашвили М. Е., Соловьев П. И., Натидзе М. М., Сванадзе Т. М., Татуашвили Н. А., Ригвава С. А. В сб.: Научные основы производства гиперимунных сывороток, Томск, 1979, 7—8.
4. Гуртовой Б. Л. Акуш. и гин., 3, 68—72, 1976.
5. Каральник Б. В. Эритроцитарные диагностикумы, «Медицина», М., 1976.
6. Каральник Б. В., Царевский Ю. П., Шамардин В. А., Шмутер М. Ф. Ж. микробиол., 2, 120—125, 1977.
7. Маянский А. Н., Коллачихин Ф. Б., Хисамутдинов А. Е. Ж. микробиол., II, 33—36, 1968.
8. Долматов В. В., Обухова Т. М., Клишевич В. П., Кононова В. П. В сб.: Проблемы стафилококковых инфекций, Саратов, 1979, 36—38.
9. Зак И. Р. Акуш. и гин., I, 43—45, 1979.
10. Шамардин В. А., Каральник Б. В. В сб.: Препараты для специфической диагностики, профилактики, терапии заболеваний, вызванных условно-патогенными бактериями, М., 1978, 56—57.
11. Boyden S. V. J. Exper. Med., 93, 107—120, 1951.
12. Csizmas L. Proc. soc. exp. Biol., 103, 157, 1960.
13. Dubert J. M., Slizewicz P., Rebeyrotte P., Macheboluf M. Ann. Inst. Pasteur, 842, 370—376, 1953.
14. Jandl I., Simmons R. Brit. J. Haemat., 3, 1, 19, 1957.
15. Shander K. Terapiewoche, 24, 3162—3173, 1974.
16. Stavitsky A. B. Intern. Arch. Allerg. Appl. Immunol., 13, 1—2, 1—38, 1958.

სტაფილოკოკური ანტიგენის სწრაფი გამომკვინის  
იმუნოლოგიური მეთოდი

ო. შიპაბერიძე, ს. რიგვავა, ი. გიორგაძე, თ. ზანუშიანი, ნ. ზამრავლიძე

სსრკ ჯანმრთელობის დაცვის სამინისტროს თბილისის ვაქცინებისა და შრატების  
სამეცნიერო-კვლევითი ინსტიტუტი  
თბილისის № 5 სამშობიარო სახლი

რ ე ზ ი უ მ ე

ერიტროციტარულ საფუძველზე მიღებულია ახალი პრეპარატი — დიაგნოსტიკუმი — სტაფილოკოკურ დაავადებათა ექსპრეს-დიაგნოსტიკისათვის. დიაგნოსტიკუმი საშუალებას გვაძლევს სისხლის შრატში ან სხვა გამოსაკვლევე სითხეში გამოვავლინოთ სტაფილოკოკები ან მიკრობის ფრაგმენტები (25 ათასი და უფრო ნაკლები მიკრობული სხეული 1 მლ-ში). პრეპარატის ძირითადი მოქმედი საწყისია

ანტისტაფილოკოკური გამა-გლობულინი, რომელიც ბოცერის (ან ცხენის) ჰიპერიმუნური შრატისაგან არის მიღებული და ყოჩის სტაბილიზებულ ერიტროციტებზეა ადსორბირებული. ეს გამა-გლობულინი უზრუნველყოფს პრეპარატის მაღალ სეროლოგიურ აქტიურობას და სპეციფიკურობას პასიური ჰემაგლუტინაციის რეაქციაში.

# IMMUNOLOGICAL METHOD OF PROMPT REVELATION OF STAPHYLOCOCCI ANTIGEN



O. V. MIKABERIDZE, S. A. RIGVAVA, I. A. GEORGADZE, T. G. CHANISHVILI,  
N. S. GAMREKLIDZE

Institute of vaccines and sera, USSR Ministry of Health, Tbilisi  
Tbilisi Maternity Hospital No 5

## Summary

On the erythrocytic basis a new preparation was obtained for express-diagnosis of staphylococcal diseases. Diagnosticum allows us to reveal in blood serum or in other examined liquid staphylococci (or fragments), about 25 thousands and less microbe bodies per 1 ml.

The acting basis is an antistaphylococcal gamma-globulin obtained from the rabbit hyperimmune serum and absorbed on stabilized sheep erythrocytes. It provides a high serologic activity and specificity of the preparation in the reactions of passive hemagglutination.

УДК 576.852.21.095.5

ГЕНЕТИКА

**СРАВНИТЕЛЬНОЕ МУТАГЕННОЕ ДЕЙСТВИЕ N-НИТРОЗО-  
-N-МЕТИЛМОЧЕВИНЫ И N-МЕТИЛ-N-НИТРО-  
-N-НИТРОЗОГУАНИДИНА НА MYCOBACTERIUM PHLEI  
ШТАММА РА**

Г. Я. Дараселия, М. Коничкова-Родохова, И. Коничек

*Институт биохимии растений АН ГССР, Тбилиси*  
*Институт микробиологии АН ЧССР, Прага*

Поступила в редакцию 18.01.1982

Изучено летальное и мутагенное действие N-нитрозо-N-метилмочевины (НММ) и N-метил-N-нитро-N-нитрозогуанидина (НГ) на *Mycobacterium phlei* штамма РА.

Установлено, что НГ по сравнению с НММ вызывает более быстрое и сильное летальное действие на *Myc. phlei* штамма РА, а также индуцирует больше ауксотрофных мутантов как в количественном, так и в качественном отношении.

Однако под действием НММ были индуцированы новые ауксотрофные фенотипы, в частности аланин- и пролинзависимые, которые ранее не были получены под действием других химических и физических мутагенов.

Что касается повышения частоты индуцированных мутантов, устойчивых к изониазиду, НММ и НГ не отличались друг от друга. НММ оказала высокое мутагенное действие на гены, которые являются более ответственными за метаболизм каротиноидов, по сравнению с другими мутагенными факторами, использованными для данного объекта.

Генетическое исследование микобактерий было основано на результатах физического и химического мутагенеза. Были исследованы летальные влияния, морфологические и физиологические изменения, которые проявились в изменениях фенотипа в смысле ауксотрофности; изучались изменения устойчивости к антитуберкулезным и хемотерапевтическим веществам [9], а также изменения продукции пигментов [3]. Был оценен мутационный диапазон *Myc. phlei* штамма РА. Кроме того, получены серии мутантов с измененными фенотипами, которые использовались в синхронизированных культурах [10] для конструирования репликационной карты хромосомы [8, 11, 12] и для изучения продукции пигментов и их промышленного использования. В этих работах были применены мутационные изменения, индуцированные УФ-лучами, HF, азотистой кислотой,

этилметансульфанатом, гидроксиламином, митомицином, кофеином, акрилфлавином, фурилакриловой кислотой и 5-нитро-2-фураальдегидом.

Выбор НММ был обоснован тем, что механизм ее действия основан на индукции транзиции, делеции и мутации «сдвига рамки» [1], а выбор НГ тем, что он метилированием гуанина на 7-метилгуанидин индуцирует, кроме характерных для НММ свойств, точечные мутации [13]. Для некоторых объектов было показано, что происходит разрыв одной нити ДНК [5] и возникают многократные мутации в коротком участке реплицирующейся бактериальной хромосомы с длиной, соответствующей 1.5—2.0 мин на генетической карте *E. coli* [6].

Целью данной работы является изучение сравнительного мутагенного действия НММ и НГ на *Myc. phlei* штамма РА для дополнения коллекции мутантов с измененными фено-



типами, а также получение таких мутантов, которые были бы удобными

для дальнейшего изучения генетики микобактерий.

## МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ

Объектом исследования служила культура *Myc. phlei* штамма РА (коллекция Чехословацкого технологического института, Прага). Опыты проводились с клетками, находящимися в фазе экспоненциального роста. Культивирование проводили в жидкой питательной среде Дюбо с «Твин-80» при температуре 37°C. Из мутагенов применяли НММ (Институт органической химии и биохимии АН ЧССР) и НГ\*. НММ растворяли в трис-малеиновом буфере при pH 6,0 в конечной концентрации 0,1% и температуре 28°C.

НГ использовали в виде новоприготовленного раствора в конечной концентрации 0,1% в трис-малеиновом буфере при pH 6,0 и температуре 37°C.

Для индукции мутантов бактериальные клетки промывали в трис-малеиновом буфере при pH 6,0 и ресус-

пендировали в том же буфере с добавлением мутагенов. Затем смесь инкубировали в водяной бане в различных экспозициях. После центрифугирования клетки ресуспендировали в трис-малеиновом буфере при pH 8,0 и центрифугировали при температуре 4°C. Затем биомассу разводили в том же количестве физиологического раствора с «Твин-80», далее производили разведения суспензии и высевали ее на твердой среде с триптозой [7] и с изониазидом\*\* в конечной концентрации 10 мг/мл. Инкубирование проводили в течение 3—5 суток при температуре 37°C.

Ауксотрофные мутанты были изолированы методом реплик-колоний на минимальной среде Девис. Питательную потребность устанавливали методом ауксографии на минимальной среде.

## РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

Индукцию мутантов под действием НММ оценивали при следующей выживаемости клеток: а) высокая — 85% (продолжительность влияния 4 ч); б) средняя — 50% (продолжительность влияния 8 ч); в) низкая — несколько процентов (продолжительность влияния 24 ч).

Под влиянием НММ была получена серия ауксотрофных мутантов и снова были подтверждены полученные нами ранее результаты о значении присутствия изониазида на твердой среде для селекции ауксотрофных мутантов у микобактерий [9]. Результаты представлены в табл. 1. Как видно из таблицы, получены ауксотрофные мутанты, зависящие от аминокислот (глицин или серин, пролин, аланин, гистидин, лизин, цистеин) и витаминов (тиамин). Несколько штаммов оказались сложными генетическими блоками и их питательную потребность не удалось установить. Колонии и клетки ауксотрофных штаммов морфологически не отличались от исходного штамма.

При влиянии НММ в тех же условиях была исследована индукция мутантов, устойчивых к изониазиду. Частота индуцирования мутантов колебалась от  $8,8 \cdot 10^{-4}$  до  $3,1 \cdot 10^{-3}$ . По сравнению со спонтанной частотой, которая менялась в рамках  $8,0 \cdot 10^{-6}$ — $3,8 \cdot 10^{-5}$ , среднее повышение частоты индуцированных мутантов было на два порядка больше.

Изменение пигментации исследовано индукцией скотохромогенных мутантов под влиянием НММ с родительского фотохромогенного штамма. При этом получено 52 мутанта с измененной продукцией пигментов. Мутантные колонии имеют оранжевую окраску, они прототрофны и хорошо растут на всех средах, используемых для культивирования микобактерий. Морфологически колонии и клетки не отличались от исходного штамма.

Спонтанные реверсии на первоначальную фотохромогенность не были исследованы. Изучено летальное и фенотипическое действие использованных мутагенов на *Myc. phlei* штамма

\* Koch-Light Laboratories Ltd. Colnbrook-Buck-England

\*\* INH „Leuma” Merseburg, NDR

РА (рис. 1, 2). Как видно из кривых на рис. 1,2, НГ оказывает более силь-

более слабое, чем НГ, мутагенное действие, она индуцирует новые ауксо-

30.01.55  
618211101030

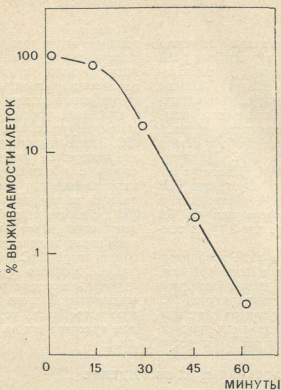


Рис. 1. Кривая выживаемости клеток под действием N-нитрозометилмочевины

ное летальное действие, чем НММ. Несмотря на то, что НММ оказывает

трофные фенотипы, которые ранее не были получены под действием других

Таблица 1  
Изолированные ауксотрофные мутанты *Myc. phlei* штамма РА, индуцированные НГ и НММ

НГ	НММ
Зависимые от:	
Аргинина	Аланина
Цистеина (цистина)	Глицина (серина)
Глицина (аргинина)	Гистидина
Глицина (серина)	Лизина и цистеина
Гистидина	Пролина
Изолейцина и валина	
Лейцина	Тиамина
Лейцина и глицина	
Лейцина и гистидина	
Аминокислоты	
Никотиновой кислоты	
Метронины	
Глютаминовой кислоты	
Треонина	
Пиримидина	
Тиамина	
Пурина	

использованных мутагенов. В частности, были получены мутанты, зависящие от аланина и пролина (табл. 1).

зывает на хорошее мутационное влияние НММ (табл. 2).

НММ значительно оправдала себя

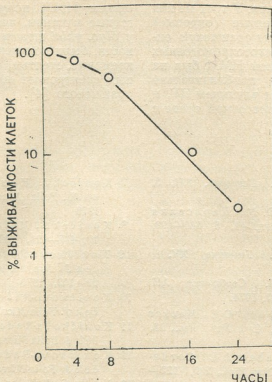


Рис. 2. Кривая выживаемости клеток под действием N-нитрозогуанидина

Мутагенное действие НММ и НГ для индукции скотохромогенных мутантов, устойчивых к изониазиду, было одинаковое, потому что исходя из наших ранних исследований мутагенеза *Myc. phlei*

Таблица 2  
Сравнительное мутагенное действие НГ и НММ на *Myc. phlei* штамма РА

Мутаген	Индукция мутантов				
	Ауксотрофных*		Скотохромогенных**		Изониазидустойчивых**
	T	TINH	T	INH	TINH
НГ	0,140	1,580	0,001	0,023	$2,2 \cdot 10^{-4}$ — $3,8 \cdot 10^{-4}$
НММ	0,011	0,121	0,046	0,169	$8,8 \cdot 10^{-4}$ — $3,1 \cdot 10^{-4}$
Контроль	—	—	—	—	$5,5 \cdot 10^{-6}$ — $3,8 \cdot 10^{-5}$

\* — % выхода штаммов;

\*\* — частота мутантов, устойчивых к изониазиду (10 мкг/мл);

T — среда с триптозой;

TINH — среда с триптозой и изониазидом (10 мкг/мл);

что повышение частоты мутантов этого фенотипа под влиянием НГ и НММ двигалось в диапазоне на два порядка больше, чем спонтанных. Это ука-

зывает, что штамм РА, можно констатировать, что из использованных мутагенов (УФ-лучи, НГ, гидроксилламин, азотистая кислота, этилметансульфанат, ко-

ფენი, აკრილფლავინ, მიტომიცინ C, 5-ნიტრო-2-ფურალდეიდ) под влиянием только НГ мы получили четыре скотохромогенных мутанта. У трех из них были интенсивно желтые (охровые) колонии, а одна имела оранжевую окраску [9]. Выход скотохромогенных мутантов под влиянием НММ был на среде с триптозой приблизительно 40 раз выше, чем под влиянием НГ, и 7 раз выше на той же самой среде с

изониазидом. Спонтанные мутанты у этого фенотипа не были получены. У *Myc. phlei* штамма РА под действием НММ получены скотохромогенные мутанты, идентичные таковым у *Myc. phlei* штамма 171 [2]. В частности, были получены мутанты белые, кремовые, желтые, розовые и различных спектров от желтого до красно-оранжевого [4].

## ЛИТЕРАТУРА

1. Васильева С. В. Генетика, XII, 5, 149—156, 1976.
2. Возняковская Ю. М., Дараселия Г. Я. Микробиология, 41, 5, 886—890, 1972.
3. Дараселия Г. Я. Генетика, XV, 8, 137—141, 1971.
4. Дараселия Г. Я. Сообщения АН СССР, 74, 3, 681—683, 1974.
5. Dugle D. L., Campbell C. E., Mecker B. E., Gillespie C. J. Mut. Res., 18, 237—245, 1973.
6. Guerola D., Ingraham J. L., Carda-Olmedo E. Nat. New Biol., 230, 122—125, 1971.
7. Koniček J., Koničková-Radochrova M. Folia Microbiol., 23, 261—271, 1978.
8. Koniček J., Malek I. Folia Microbiol., 12, 417—421, 1967.
9. Koničková-Radochrova M., Koniček J., Malek I. Folia Microbiol., 15, 88—102, 1970.
10. Koničková-Radochrova M., Koniček J. Folia Microbiol., 19, 16—23, 1974.
11. Koničková-Radochrova M., Koniček J. Folia Microbiol., 21, 10—20, 1976.
12. Koničková-Radochrova M., Koniček J. Folia Microbiol., 26, 59—61, 1981.
13. Neale S. Mut. Res., 32, 229—266, 1976.

## N-ნიტროზო-N-მეთილშარდოვანასა და N-მეთილ-N-ნიტრო-N-ნიტროზოზუანიდინის შედარებითი მუტაგენური მოქმედება MYCOBACTERIUM PHLEI-ის შტამ PA-ზე

ბ. ღარასელია, მ. კონიჩკოვა-რადოხოვა, ი. კონიჩეკი

ჩეხოსლოვაკიის მეცნიერებათა აკადემიის მიკრობიოლოგიის ინსტიტუტი, პრაღა  
საქართველოს სსრ მეცნიერებათა აკადემიის მეცნიერთა ბიჭიმის ინსტიტუტი, თბილისი

### რ ე ზ ი მ ე

შესწავლილ იქნა N-ნიტროზო-N-მეთილშარდოვანასა (ნმშ) და N-მეთილ-N-ნიტრო-N-ნიტროზოზუანიდინის (ნბ) მუტაგენური მოქმედება *Myc. phlei*-ის შტამ PA-ზე. დადგენილ იქნა რომ ნბ ნმშ-თან შედარებით უფრო სწრაფად და მძლავრად ლეტალურად მოქმედებს და მეტი აუქსოტროფული მუტანტების ინდუცირებას იწვევს, როგორც რაოდენობრივი ისე თვისობრივი თვალსაზრისით. ამავე დროს ნმშ-ით ინდუცირებულ იქნა ახალი აუქ-

სოტროფული, კერძოდ, ალანინ- და პროლინდამოკიდებული ფენოტიპები.

იზონიაზიდის მიმართ მდგრადი მუტანტების ინდუცირების სიხშირის ზრდა ერთნაირად ხდებოდა ნმშ და ნბ-ს ზეგავლენით. ნმშ, სხვა გამოყენებულ მუტაგენებთან შედარებით, უფრო მაღალ მუტაგენურ მოქმედებას ამტკიცებს იმ გენებზე, რომლებიც მონაწილეობენ კაროტინოიდების მეტაბოლიზმის რეგულაციაში.



COMPARATIVE MUTAGENIC EFFECT OF N-NITRO-N-METHYLUREA  
AND N-METHYL-N-NITRO-N-NITROSOGUANIDINE ON  
*MYCOBACTERIUM PHLEI* STRAIN PA



G. Ja. DARASELIA, M. KONIČKOVA-RADOCHOVA, J. KONIČEK

Institute of Plant Biochemistry, Georgian Academy of Sciences, Tbilisi  
Institute of Microbiology of CSSR, Prague

Summary

Lethal and mutagenic influence of NMU and NG on *Myc. phlei* strain PA has been studied. NG in comparison with NMU was shown to cause more rapid and higher lethal effect on *Myc. phlei* strain PA, and NG inhibited qualitatively and quantitatively more auxotrophic mutants.

Therefore, under the influence of NMU, new auxotrophic phenotypes, name-

ly alanine and proline-dependent one have been induced.

By the induction frequency of isoni-  
asid stable mutants NMU and NG do not differ from each other. NMU, in comparison with other mutagenic factors used in the present study showed a high mutagenic influence on the genes, responsible for the metabolism of carotinoids.

УДК 577.158.083.2 (047.5)

БИОФИЗИКА

## ИССЛЕДОВАНИЕ МЕТОДОМ ПРОТОННОГО МАГНИТНОГО РЕЗОНАНСА ТИТРОВАНИЯ ЦИАНОФЕРРИЦИТОХРОМА С

М. И. Табагуа, Л. А. Сибельдина

*Абхазский государственный университет, Сухуми.  
Институт химической физики, АН СССР, Москва*

Поступила в редакцию 08.10.1981

Исследованы изменения в спектре протонного магнитного резонанса (ПМР) высокого разрешения цианоферрицитохрома С с низкоспиновым гемовым железом в зависимости от рН в интервале  $3 \div 12$  в  $D_2O$ . В области рН  $6,5 \div 11$  спектр ПМР цианоферрицитохрома С практически не изменяется. Значительные изменения в спектре ПМР в интервале рН  $4 \div 6,5$  указывают на существование перехода цианоферрицитохрома С в феррицитохром С с рК перехода, равным 4,5 и 5,5. Спектр ПМР цианоферрицитохрома С в области рН  $3 \div 4$ , в которой сохраняется низкоспиновое состояние гемового железа, заметно отличается от спектра в области рН  $6,5 \div 11$ , свидетельствуя о различии в состоянии гемового кольца. Вблизи рН 12 спектр ПМР цианоферрицитохрома С идентичен спектру феррицитохрома С при рН 12, что указывает на замещение CN-лиганда гемового железа лигандом другой природы в белке. В спектре ПМР цианоферрицитохрома С отражаются конформационные переходы в белковой структуре, не затрагивающие лигандов гемового железа при изменении рН раствора.

### ВВЕДЕНИЕ

Положение резонансных сигналов протонов метильных групп гема, сдвинутых сверхтонким взаимодействием с неспаренным электроном гемового железа в спектрах ПМР феррицитохрома С и его комплекса с CN заметно различаются, поэтому образование CN-феррицитохрома С удобно наблюдать по спектрам ПМР. Ранее было показано [13] образование комплекса иона CN с гемовым железом цитохрома С в шестом координа-

ционном положении. В ряде исследований структурных особенностей цитохрома С методами ПМР и абсорбционной спектроскопии было установлено несколько конформационных переходов белковой молекулы при изменении рН среды [7, 12].

Цель настоящей работы — исследовать методом ПМР высокого разрешения влияние рН раствора на стабильность и свойства комплекса иона CN с феррицитохромом С.

### МЕТОДИКА

Цитохром С из сердца лошади (фирмы «Calbiochem») переводили в окисленную форму с помощью феррицианида калия с последующим диализом. Цианоферрицитохром С получали добавлением KCN к раствору феррицитохрома С в  $D_2O$ . рН раствора в области  $3 \div 12$  устанавливали добавлением NaOH и DCl. Спектры снимались на спектрометре НХ—90Е

фирмы «Брукер физик» в режиме Фурье преобразования при температуре  $300^\circ K$ . Число накоплений при снятии спектров составляло 3000, концентрация белка в растворе равнялась  $4 \times 10^{-3} M$ . В качестве внутреннего эталона для определения химического сдвига сигналов использовали 2,2-диметил-2-силапентан-5 сульфоновую кислоту (ДСС).

На рис. 1 представлены спектры ПМР в области поля 10–35 м.д. цианоферрицитохрома С в диапазоне рН от 3 до 12. Четыре низкопольных сигнала при 22,6; 21,3; 16,4 и 11,4 м.д., наблюдаемые в спектре цианоферрицитохрома С в области рН 6,5–11, принадлежат протонам метильных

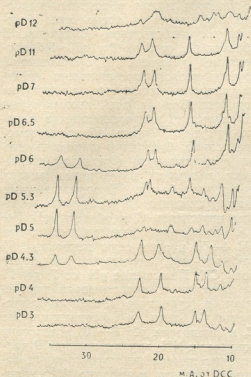


Рис. Спектры цианоферрицитохрома С в области между 10 и 35 м. д. в интервале рН 3–12 (спектры получали в результате 3000 накоплений при 300 К)

групп четвертого, второго, первого и третьего пирольных колец гема соответственно [13]. Рассматриваемая область спектра цианоферрицитохрома С практически не изменяется в этом диапазоне рН. При понижении рН в области 4–3 сигналы метильных протонов гема при 22,6; 21,3; 16,4 и 11,4 м.д. смещаются к положениям при 22,5; 19,8; 15 и 13,5 м.д. соответственно. Не вызывает сомнения тот факт, что как в щелочном растворе цианоферрицитохрома С (рН 6,5–11), так и в кислом (рН 3–4) аксиальные лиганды гема сохраняются — гистидин 18 в пятом и ион CN в шестом координационном положениях. Следовательно, спектральные измене-

ния, наблюдаемые в спектре ПМР цианоферрицитохрома С при понижении рН раствора, очевидно, вызваны изменением конформации белковой молекулы. Ниже рН 3 рассматриваемые сигналы кольцевых метилового гема в спектре ПМР цианоферрицитохрома С полностью исчезают. Известно, что закисление раствора феррицитохрома С ниже рН 3 вызывает кооперативный переход с  $pK \sim 2,5$ , включающий как раскручивание глобулярной нативной конформации, так и замену обоих аксиальных лигандов гема на молекулы растворителя [2], что обуславливает, в свою очередь, переход гемового железа из низкоспинового состояния в высокоспиновое. В присутствии иона CN в растворе феррицитохрома С, по-видимому, образуется дициановый комплекс с гемом, в котором, как было показано на модельных системах [5], железо обладает высокоспиновым состоянием. Присутствие высокоспинового железа подтверждается исчезновением контактно сдвинутых сигналов гема, которые сильно уширяются благодаря медленной релаксации электронов высокоспинового гемового железа. Вблизи рН 12 низкопольная область спектра ПМР цианоферрицитохрома С идентична спектру феррицитохрома С, что указывает на отсутствие комплекса иона CN с ферригемом цитохрома С. Структурные перестройки в молекуле феррицитохрома С в сильнощелочном растворе рН 12 плохо изучены. Было высказано предположение [7], что вблизи рН 12 имеет место раскрытие щели молекулы цитохрома С. Отсутствие комплекса CN — феррицитохром С при рН 12 указывает на присутствие сильной связи в аксиальных положениях к гему, несмотря на более раскрытую структуру молекулы белка.

Как видно на рис. 1, в области рН 4–6,5 в спектре ПМР цианоферрицитохрома С появляются сигналы протонов метильных групп гема при 32 и 35 м.д., которые могут быть характеристикой нативной конформации феррицитохрома С, и широкий сигнал при –24 м.д. [13], ранее отнесенный к метильной группе метионина 80, шестого лиганда гема (этот сигнал не приведен на рисунке). Эти спектральные переходы имеют  $pK$  4,5

и 5,5 и указывают на вытеснение иона CN атомом серы метионина 80 в шестом координационном положении с образованием нативной структуры феррицитохрома С. Поскольку аминокислотный остаток метионина 80 не имеет ионизируемых групп в воде, то спектральные переходы  $pK \sim 4,5$  и  $5,3$  могут быть вызваны ионизацией других групп, вероятно карбоксильных или имидазольных, в окрестности гема. Так как имидазольная группа гистидина 18 имеет  $pK$  ниже 2 [3, 11], то наблюдаемые переходы не могут быть связаны с изменением его состояния. Изучение кинетики спектральных переходов феррицитохрома С в области кислых значений pH указывает, что лигандная связь метионина 80 в шестом координационном положении гемового железа контролируется ионизирующей группой с присутствием  $pK \sim 5,3$  [10] — величиной в диапазоне  $pK$  для порфиридикарбоксильных кислот [6]. Данные рентгеноструктурного анализа показывают, что обе пропионовые и карбоксильные группы гема цитохрома С вовлечены в нековалентные взаимодействия с аминокислотными остатками, расположенными вблизи гемового кольца, и тем самым обуславливают стабилизацию гема в гемовой щели [4]. Остаток пропиановой кислоты, связанный с тетрапирольным кольцом 3, расположен на дне гемовой щели и служит акцептором водородной связи для гидроксильной группы треонина 49 и амидной группы аспарагина 52. Пропионовый остаток, связанный с тетрапирольным кольцом 4, скрыт внутри молекулы белка и служит акцептором водородной связи для индольного кольца триптофана 59 и фенольного гидроксила тирозина 48. Можно предположить, что в области  $pH$  3—4 карбоксильная группа обоих пропионовых остатков гема протонирована, в результате чего водородные связи этих групп с аминокислотами вблизи гема нарушаются. Это может вызвать такое смещение гемового кольца в гемовой щели, что лигандная связь метионина 80 с железом гема ослабевает и шестое координационное положение становится доступным иону CN. Повышение pH от 4 до 5 с  $pK \sim 4,5$  приводит к ионизации одной из двух карбоксильных

групп пропионовых остатков, и, следовательно, к образованию водородных связей, фиксирующих гем в гемовой щели. Фиксация гема внутри молекулы одним из двух пропионовых остатков приводит к переориентации гемового кольца в гемовой щели с последующим вытеснением иона CN атомом серы метионина 80. По-видимому, такая структура в окрестности гема может обеспечить наиболее жесткую связь атома серы в шестом координационном положении. В области pH от 5 до 6 с  $pK \sim 5,5$  происходит ионизация карбоксильной группы второго пропионового остатка, которая становится акцептором водородной связи для боковых групп аминокислот, расположенных в окрестности гема. Таким образом, гемовое кольцо, благодаря фиксации двумя пропионовыми остатками, принимает нативную ориентацию внутри молекулы белка. Координационная связь метионина 80 с гемовым железом цитохрома С в области pH 5—6,5 ослабевает (относительно связи  $pH$  4—5) и атом серы метионина 80 уступает свое аксиальное положение иону CN. Повышение pH от 7 до 11 не приводит к существенным изменениям в структуре цианоферрицитохрома С, хотя в феррицитохроме С, в диапазоне pH 8—10, вследствие ионизации  $NH_3$  группы лизина 79 происходит замена шестого лиганда гемового железа метионина 80 на лизин 79 с последующими структурными перестройками в окрестности гема [7, 9]. Маловероятно, чтобы ионизованная форма лизина 79 смогла нарушить координационную связь в феррицитохроме С между атомом серы и гемовым железом в области  $pH$  4—5, в то время как в диапазоне  $pH$  7—11 лизин 79 легко вытесняет метионин 80 из аксиального положения к гему. По-видимому, замена аксиального лиганда гемового железа в молекуле феррицитохрома С. наблюдаемая в области  $pH$  8—10, обусловлена ослаблением координационной связи метионина 80 с ферригемом настолько, что  $\epsilon-NH_2$  группа лизина способна вытеснить атом серы в шестом координационном положении. В цианоферрицитохроме С депротонирование боковой группы лизина 79 не приводит к структурным пере-



стройкам в окрестности гема, поскольку шестое координационное положение занято сильно связанным лигандом иона CN. Этим и обусловлена инвариантность спектра ПМР цианоферрицитохрома С в интервале рН 7—11. Таким образом, ориентация плоскости гемового кольца внутри белковой молекулы определяет силу координационной связи шестого лиганда гемового железа и зависит от рН раствора. Координационная связь атома серы метионина 80 в аксиальном положении к гему максимальна в области рН 4—5 и значительно ослабевает как выше рН 6, так и ниже рН 4.

Анализ низкочастотных сигналов протонов метильных групп гема феррицитохрома С в спектре ПМР 35 и 32 м. д. указывает на изменение параметров рассматриваемых сигналов в интервале рН 7—5, а именно: резонансные сигналы при 32 и 35 м. д. смещаются навстречу друг другу от 264 Гц, при рН 7, до 220 Гц, при рН 5. Эти изменения, несомненно, связаны с изменением электронной структуры гема феррицитохрома С. Таким образом, сравнивая полученные данные, можно заключить, что спектральные изменения, наблюдаемые при закислении раствора феррицитохрома С в интервале рН 7—5, отражают перестройку структуры белка в конформацию с наиболее сильной координационной связью в шестом положении гемового железа.

Ослабление прочности координационной связи атома серы метионина 80 с железом гема в области физиологических значений рН, относительно прочности связи в диапазоне рН 4—5, возможно, связано с функциональными особенностями молеку-

лы цитохрома С. Возможно, для переноса электрона с молекулы востановителя на гем феррицитохрома С наиболее благоприятной конформацией является структура с сильной координационной связью в шестом положении к гему, которая имеет место в растворе при рН 4—5. Исследование методом ПМР взаимодействия окисленного цитохрома С с пероксидазой [8], а также наши исследования взаимодействия цитохрома С с полиаминокислотами, моделирующими оксидоредуктанты белка при рН 7 [1] обнаруживают сдвиги метильных сигналов гема при 32 и 35 м. д. в спектре ПМР, направленных навстречу друг другу. Это может быть связано с перестройкой структуры молекулы цитохрома С в комплексе с биополимером в конформацию с наиболее сильной лигандной связью атома серы метионина 80 с гемовым железом. Поскольку карбоксильная группа пропионового остатка тетрапирольного кольца 4 связана водородной связью с триптофаном 59, который, по мнению Диккерсона [4], участвует в транспорте электрона, можно предположить, что в комплексе с биополимером (оксидазой или редуктазой), в результате возмущения поверхностных аминокислотных остатков, индольное кольцо триптофана 59 смещается относительно своего положения в нативном белке, вызывая разрыв водородной связи карбоксильной группой пропионата, что приводит к переориентации плоскости гема внутри глобулы и образованию конформации с сильной координационной связью в шестом лигандном положении, которая является наиболее благоприятной для переноса электрона.

## ЛИТЕРАТУРА

1. Табагуа М. И. Исследование пути переноса электрона в цитохроме С методом ЯМР, Канд. дисс., Пушкино, 1977.
2. Babul J., Stellwagen E. *Biochemistry*, 11, 1195—1200, 1972.
3. Cohen J. S., Hayes M. B. *J. Biol. Chem.*, 249, 5472—5477, 1974.
4. Diekerson R. E., Takano T., Eisenberg D., Kallai O. B., Samson L., Cooper A., Margoliash E. *J. Biol. Chem.*, 246, 1511—1523, 1971.
5. Falk J. E. In: *Comprehensive Biochemistry* (eds Stotz E. H., Floskin M.), Amsterdam-London-New York, V. S., 1963, 46—48.
6. Falk J. E. In: *Porphyrins and Metalloporphyrins*, Amsterdam, Elsevier, 1964, 225—230.
7. Gupta R. K., Koenig S. H. *Biochem. Biophys. Res. Com.*, 45, 5, 1134—1143, 1971.
8. Gupta R. K., Yonetani T. *Biochim. Biophys. Acta*, 292, 502—508, 1973.
9. Power S. D., Choucair A., Pal-

mer G. Biochem. Biophys. Res. Com., 66, 1, 103—107, 1975.

10. Stellwagen E., Babul T. Biochemistry, 14, 23, 5135—5140, 1975.

11. Stellwagen E., Shulman R. G. J. Mol. Biol., 75, 683—695, 1973.

12. Jheorell H., Akesson A. Biol. Chem., 63, 1804—1826, 1941.

13. Wuthrich K. Proc. Nat. Acad. Sci., 63, 1071—1078, 1969.



პროტონულ-მაგნიტური რეზონანსის (პმრ) მეთოდით ციანოფერრიციტოქრომი C-ს ტიტრირების გამოკვლევა

მ. ტაბაგუა, ლ. სიბელდინა

აფხაზეთის სახელმწიფო უნივერსიტეტი, სოხუმი  
სსრკ მეცნიერებათა აკადემიის ქიმიური ფიზიკის ინსტიტუტი, მოსკოვი

რეზიუმე

მაღალი გარჩევის უნარის მქონე პროტონულ-მაგნიტური რეზონანსის მეთოდით შესწავლილ იქნა ცვლილებები ციანოფერრიციტოქრომი C-ს სპექტრში დაბალსპინური ჰემური რკინით, pH-თან დამოკიდებულებით 3—12 D<sub>2</sub>O ინტერვალში. pH 6,5—11 დიაპაზონში პმრ ციანოფერრიციტოქრომი C-ს სპექტრი პრაქტიკულად არ იცვლება მნიშვნელოვანი ცვლილება პმრ-ის სპექტრში pH 4—6,5 ინტერვალით, რაც მაჩვენებელია ციანოფერრიციტოქრომი C-ს გადასვლის არსებობისა pK 4,5 და 5,5 მქონე ფერიციტოქრომი C-ში. პმრ-ციანოფერრიციტოქრომი C-ს სპექტრი pH 3—4 უბანში, რომელშიც შენარჩუნებულია ჰემური რკინის დაბალსპინური მდგომარეობა, მნიშვნელოვნად განსხვავდება pH 6,5—11 დიაპაზონში არსებული სპექტრისაგან. ეს დასტურებს განსხვავებას ჰემური რგოლის მდგომარეობაში. pH 12 უბნის მახლობლად პმრ-ციანოფერრიციტოქრომი C-ს სპექტრი იდენტურია ფერიციტოქრომი C-ს pH 12 სპექტრისა. ეს მაჩვენებელია ცილაში ჰემური რკინის CN-ლიგანდის სხვა ბუნების ლიგანდით ჩანაცვლებისა. პმრ-ციანოფერრიციტოქრომი C-ს სპექტრში ასახულია ცილის სტრუქტურაში კონფორმაციული გადასვლები, რომლებიც არ ეხება ჰემური რკინის ლიგანდებს ხსნარის pH-ის შეცვლისას.

PMR INVESTIGATION OF TITRATION OF CYANOFERRICYTOCHROMES C

M. I. TABAGUA, L. A. SIBELDINA

Abkhazian State University, Sukhumi  
Institute of Chemical Physics, USSR Academy of Sciences, Moscow

Summary

The changes in the high resolution PMR spectrum of cyanoferricytochromes C with low-spin Heme iron depending on PH with the interval 3:12 in D<sub>2</sub>O have been investigated. PMR spectrum of cyanoferricytochromes C is not practically changed in the region of PH 6.5:11. Considerable changes of PMR spectrum in the

interval 4:6.5 show the transformation of cyanoferricytochromes C into ferricytochromes C with PK equal to 4. 5: 5.5. In the region of pH 3:4 where low-spin state of Heme iron is preserved PMR spectrum of cyanoferricytochromes C considerably differs from the spectrum in the region of pH 6.5:11 showing variations in

the Heme ring state. Near PH 12 the PMR spectrum of cyanoferricytochrome is identical with the spectrum of ferricytochromes C at PH 12 which shows the change of CN-ligand of Hemes iron by the ligand of a different nature in the protein. Con-

formation changes in the protein structure including no ligands of Heme iron are observed in the PMR spectrum of cyanoferricytochromes C when PH of solution is changed.

## ВТОРАЯ ЗАКАВКАЗСКАЯ РЕГИОНАЛЬНАЯ ШКОЛА ПО МОЛЕКУЛЯРНОЙ БИОЛОГИИ И МОЛЕКУЛЯРНОЙ БИОФИЗИКЕ

В научный и экономический потенциал нашей страны в последние годы существенный вклад начинает вносить физико-химическая биология. Глубокое проникновение в самую суть явлений, определяющих существование и развитие всех живых организмов, понимание химических механизмов наследственности, биосинтеза белков, злокачественного перерождения клеток и других процессов создали фундамент для принципиально новых решений ряда важнейших проблем медицины, сельского хозяйства и некоторых отраслей промышленности.

В план XI пятилетки включено решение проблемы получения ряда белково-пептидных препаратов приемами биотехнологии. Речь идет, в первую очередь, о эффективном противовирусном средстве — интерфероне, о инсулине, остро необходимом для лечения диабета, о некоторых гормонах, в частности гормоне роста.

Все эти практические разработки базируются на результатах фундаментальных научных исследований в области физико-химической биологии и, в частности, таких ее разделов, как молекулярная биология и молекулярная биофизика. Эти научные исследования ведутся во многих центрах нашей страны, в том числе и в закавказских республиках. Концентрация сил ученых на решении ряда ключевых проблем, проблемы обеспечения и подготовки кадров нашли свое отражение в постановлении ЦК КПСС и Совета Министров СССР по вопросам дальнейшего развития физико-химической биологии и биотехнологии, принятом в 1981 году.

В марте 1982 года была проведена II Закавказская региональная школа по молекулярной биологии и молекулярной биофизике, которая была организована под руководством чл.-корр. АН ГССР, проф. М. М. Заалишвили. В работе школы приняли участие многие известные советские ученые, в том числе лауреаты Государственной премии

СССР: член-корр. АН СССР А. Д. Мирзабеков, доктора наук Т. В. Венкстерн, Л. Л. Киселев и З. А. Шабарова, а слушателями, наряду с научными сотрудниками институтов Тбилиси, Еревана и Баку, являлись также студенты IV и V курсов физического и биологического факультетов Тбилисского государственного университета. Был рассмотрен широкий круг проблем, начиная от структуры генетического аппарата вплоть до вопросов эволюции — на примере архебактерий, которые стали всесторонне исследоваться сравнительно недавно. Лекцию об архебактериях прочитал научный сотрудник Института физиологии им. И. С. Бериташвили АН ГССР, лауреат премии Ленинского Комсомола Д. А. Прангишвили. Содержательные лекции прочли д. б. н. Т. Г. Беридзе (Институт биохимии растений АН ГССР) и к. б. н. Г. Р. Геташвили (Институт физиологии им. И. С. Бериташвили АН ГССР). Большой интерес вызвали лекции проф. Л. Л. Киселева (Институт молекулярной биологии АН СССР), проф. Т. В. Венкстерн (Институт молекулярной биологии АН СССР) и проф. З. А. Шабаровой (Московский государственный университет им. М. В. Ломоносова), посвященные современным представлениям о механизме процессов, вызывающих злокачественные опухоли, организации и экспрессии генов эукариот, проблеме синтеза генов и ряду других проблем.

По мнению участников, школа прошла с большим успехом, в деловой и непринужденной атмосфере острых и плодотворных научных дискуссий.

Закавказские региональные школы по молекулярной биологии и молекулярной биофизике становятся хорошей традицией и остается только пожелать, чтобы следующая школа привлекла еще большее число студентов и продемонстрировала такой же высокий уровень и практическую значимость научных исследований, как и предыдущие.



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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

12. Авторы получают бесплатно 12 отдельных оттисков.

600/88  
Цена 85 коп.

Индекс

  
НАЦИОНАЛЬНАЯ  
76204 ПРИБЛИЖ