

784-8  
1987



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**

1987 N 6 - თბილისი - თბილ  
- ТБИЛИСИ - ТОМ  
- TBILISI - VOL.

**13**

СПИСОК РАЗДЕЛОВ БИОЛОГИИ,  
ПО КОТОРЫМ ПРИНИМАЮТСЯ СТАТЬИ

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



# ბიოლოგიის სერია СЕРИЯ БИОЛОГИЧЕСКАЯ

ტომი 13, № 6  
Том

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

29581

სარედაქციო კოლეგია:

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

ლ. გაბუნია, ს. დურმიშიძე, მ. ზალიშვილი, გ. თუმანიშვილი,  
გ. კანდელაკი, კ. ნადარეიშვილი, გ. ნახუცრიშვილი, გ. სანაძე, ზ. ყურაშვილი,  
თ. ჭანიშვილი, ნ. ჯავახიშვილი  
პასუხისმგებელი მდივანი ს. ლაბაძე

**РЕДАКЦИОННАЯ КОЛЛЕГИЯ:**

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

Л. К. Габуня, Н. А. Джавахишвили, С. В. Дурмишидзе,  
К. Ш. Надарейшвили, Г. Ш. Нахуцришвили, Г. А. Санадзе, Г. Д. Туманишвили,  
М. М. Заалишвили, Г. В. Канделаки, Б. Е. Курашвили,  
Т. Г. Чанишвили  
Ответственный секретарь С. Р. Лабадзе

**EDITORIAL BOARD:**

Editor-in-Chief V. M. Okujava  
Associate Editor T. N. Oniani  
Editorial Secretary G. L. Bekaiia

T. G. Chanishvili, N. A. Djavakhishvili, S. V. Durmishidze,  
L. K. Gabunia, G. V. Kandelaki, G. A. Sanadze,  
G. D. Tumanishvili, M. M. Zaalishvili, B. E. Kurashvili,  
K. Sh. Nadareishvili, G. Sh. Nakhutsrishvili  
Executive Secretary S. R. Labadze

© Известия АН ГССР  
Серия биологическая, 1987

Корректор Д. Р. Арчвадзе

Сдано в набор 17.07.1987; Подписано к печати 24.11.1987; Формат бумаги  
70×108<sup>1</sup>/<sub>16</sub>; Бумага № 1; Печатных л. 6,3; Уч.-издат. л. 6,0;  
УЭ 14352; Тираж 1000; Заказ № 2514;

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 ГССР, Тбилиси, 380060, ул. Кутузова, 19

Ш. Д. Манджавидзе, Л. Б. Гветадзе, Т. Н. Ониани. Динамика нейронной активности преоптической области в цикле бодрствования-сон	365
შ. მანჯავიძე, ლ. გვეტაძე, თ. ონიანი. პრეოპტიკური უბნის ნეირონული აქტივობის დინამიკა ძილ-ღვიძილის ციკლში	
Sh. D. Manjavidze, L. B. Gv'etadze, T. N. Oniani. Dynamics of neuronal activity of the preoptic area in the sleep — wakefulness cycle	
Г. Н. Саганелидзе, А. С. Пивоваров. Привыкание нейрона ППа4 виноградной улитки к локальным аппликациям ацетилхолина на разные зоны соматической мембраны	372
გ. საგანელიძე, ა. პივოვაროვი. ვაზის ლოკოკინის ნეირონ მპა4-ის შერჩევა სომატური მემბრანის სხვადასხვა უბნებში აცტილქოლინის ლოკალური აპლიკაციებისადმი	
G. N. Saganelidze, A. S. Pivovarov. Habituation of helix lucorum's neuron RPa4 to acetylcholine locally applied to different zones of the somatic membrane	
З. А. Зурабашвили, Н. А. Бакурдзе. Изучение газового состава крови при алкогольной интоксикации различной степени	380
ზ. ზურაბაშვილი, ნ. ბაკურაძე. სისხლის გაზური შედგენილობის ცვლილებები სხვადასხვა ხარისხის ალკოჰოლური დათრობის დროს	
Z. A. Zurabashvili, N. A. Bakuradze. Alteration of gas content in the blood by alcoholic intoxication of different degrees	
К. И. Пагава, И. Ф. Минеев, Т. О. Алашвили, Э. И. Гершкович. Влияние лазеропунктуры на устойчивость психо-эмоциональной нагрузки у детей с бронхиальной астмой	387
კ. ი. პაგავა, ი. ფ. მინეევ, თ. ო. ალაშვილი, ე. ი. გერშკოვიჩ. ლაზერპუნქტურის გავლენა ბრონქული ასთმით დაავადებულ ბავშვების გამძლეობაზე ფსიქოემოციური დატვირთვისადმი	
K. I. Pagava, I. F. Mineev, T. O. Alashvili, E. I. Gershkovich. Laserpuncture influence on the resistance to psychoemotional loading in the children suffering from bronchial asthma	
Л. И. Андриадзе. Жидкокристаллические структуры — липосомы и протеолипосомы	390.
ლ. ანდრიადე. თხევადკრისტალური სისტემები — ლიპოსომები და პროტეოლიპოსომები	
L. I. Andriadze. Liquid crystal systems—liposomes and proteoliposomes	
Л. Г. Цакадзе, З. П. Кометиани. К вопросу о функциональной значимости действия нейротрансмиттеров на Na, К-АТФазную систему	396
ლ. წაქაძე, ზ. ქომეთიანი. ნეიროტრანსმიტერების Na,K-ატფაზურ სისტემაზე მოქმედების ფუნქციური მნიშვნელობის საკითხის შესახებ	
L. G. Tsakadze, Z. P. Kometiani. On the question of functional significance of neurotransmitters effect on Na,K-ATPase system	
Г. С. Турманаули, Е. В. Яровая, Н. В. Карсанов. Механизм фармакологического действия кардиотропных средств на систему contractильных белков миокарда	401
გ. თურმანაული, ე. იაროვაია, ნ. კარსანოვი. გულის კუნთის შეკუმშვად ცილებზე კარდიოტროპული საშუალებების ფარმაკოლოგიური მოქმედების მექანიზმები	
G. S. Turmanauli, E. V. Yarovaia, N. V. Karsanov. The mechanisms of pharmacologic effect of cardiotropic agents on the myocardial contractile protein system	
Л. К. Габуния, В. Дж. Габуния. Краткий обзор палеогеновой и раннемиоценовой фауны насекомыхных Зайсанской впадины, (Восточный Казахстан)	406
ლ. გაბუნია, ვ. გაბუნია. ზაისანის ტაფობის (აღმ. ყაზახეთი) პალეოგენური და ადრე ნეოგენური მწერიკუთხების ფაუნათა მიმოხილვა	



- L. K. Gabunia, V. J. Gabunia Preliminary report of insectivore faunas from the paleogene and early neogene of the Zaissan depression (East Kazakhstan) 412
- A. G. Кацитадзе. Экспериментальная смешанная инфекция, вызванная Trichophyton rubrum, парамиксовирусом (вирус Сендай) и онковирусами типа А и С 412
- ა. კაციტაძე. წითელი ტრიქოფიტონის სენდაის ვირუსით და А და С ტიპის ონკოვირუსებით გამოწვეული შერეული ექსპერიმენტული ინფექცია
- A. G. Katsitadze. Experimental mixed infection, caused by Trichophyton rubrum Sendai virus and oncoviruses A and C types
- Н. И. Махатадзе, В. В. Яздовский, В. В. Меунаргия, Н. Г. Каландадзе. HLA у больных системной красной волчанкой в грузинской популяции 416
- ნ. მახათაძე, ვ. იაზდოვსკი, ვ. მეუნარგია, ნ. კალანდაძე. HLA ანტიგენები სისტემურ წითელი მგლურით დაავადებულ ქართველებში
- N. I. Makhatadze, V. V. Iazdovski, V. V. Meunargia, N. G. Kalandadze. HLA antigens of Georgian patients with systemic lupus erythematosus
- T. V. Бурджанадзе, М. О. Безитадзе. Калориметрическое исследование плавления коллагеновых фибрилл нативного типа с различной термостабильностью 419
- თ. ბურჯანაძე, მ. ბეჟიტაძე. თერმოსტაბილურად განსხვავებული კოლაგენური ბოჭკოების ლღობის კოლორიმეტრული გამოკვლევა
- T. V. Burjanadze, M. O. Bezhitadze. Calorimetric study of melting of different thermostability collagen fibrils of native type
- З. Д. Урушадзе. Квантовое рассмотрение кинетики элементарного акта некоторых модельных биохимических реакций с переносом электрона 424
- ზ. ურუშაძე. ელექტრონის გადატანით მიმდინარე ზოგიერთი მოდეულური ბიოქიმიური რეაქციის ელემენტარული აქტის კვანტურ-მექანიკური განხილვა
- Z. D. Urushadze. Quantum consideration of kinetics of some model biochemical electron transfer reactions elementary act
- Алфавитный указатель авторов 13 тома 431

УДК 612.826.5:612.821.7

ФИЗИОЛОГИЯ ЧЕЛОВЕКА И ЖИВОТНЫХ

## ДИНАМИКА НЕЙРОННОЙ АКТИВНОСТИ ПРЕОПТИЧЕСКОЙ ОБЛАСТИ В ЦИКЛЕ БОДРСТВОВАНИЕ-СОН

Ш. Д. Манджавидзе, Л. Б. Гветадзе, Т. Н. Ониани

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

Поступила в редакцию 20.05.1987

На крысах, в условиях их свободного поведения, изучалась динамика нейронной активности преоптической области в цикле бодрствование-сон. Показано, что часть нейронов этой области (40%) разряжается более высокочастотно во время медленного сна (по сравнению с эмоциональным бодрствованием и парадоксальным сном). Отдельной группой выделяются нейроны (52%), ведущие себя противоположно: в частности их активность во время эмоционального бодрствования и парадоксального сна была выше, чем на фоне медленного сна. Обнаружены также нейроны (8%), не меняющие свою активность при смене фаз и стадий цикла бодрствование-сон. Обсуждается участие преоптической области в механизмах, ответственных за запуск и поддержание медленного сна.

Выяснение механизмов, участвующих в запуске и формировании фаз цикла бодрствование-сон (Б-С), является одним из важнейших проблем физиологии, начиная с первых клинических и поведенческих исследований. Ренсон [17] и Гесс [8], основываясь на клинических наблюдениях Экономо [24], в экспериментах на животных показали наличие в переднем гипоталамусе и преоптической области (ПО) так называемого «центра сна». На значение этой области гипоталамуса в формировании медленной синхронной активности, характерной для медленноволновой фазы сна (МС), указывают и наблюдения, проведенные на *serveau isole* препаратах. Вследствие перерезки мозга на уровне передних бугров четверохолмия у животных отмечается закономерное чередование синхронизации и десинхронизации электрической активности [23].

Электрическое раздражение ПО (как низко- так и высокочастотное) вызывает синхронизацию ЭЭГ [2, 19, 20] и поведенческий сон [20]. Билатеральное повреждение этого

участка сопровождается полной редукцией сна с гиперактивностью и последующей гибелью животного [2, 19, 20]. Лукас и Стерман [12], а также Гветадзе [2], детально изучая эффекты повреждения ПО, показали, что имеющая место в этих случаях бессонница не сопровождается какими-либо нарушениями некоторых других видов активности (динамика температуры тела, еда, условнорефлекторная деятельность, ритм отдых — активность), наблюдаемых при бодрствовании. По Стерману и Клементу [20] проекции из ПО могут блокировать афферентные связи и подавлять сенсорные и моторные функции МРФ и таламуса. В подтверждении этого мнения можно привести ряд фактов; раздражение этой области тормозит спинальные рефлексы [21], вызывает постсинаптическое торможение нейронов ствола мозга [14], а также спинного мозга [18]. Кроме того, на фоне раздражения ПО наблюдается торможение вызванных ответов ретикулярной формации [3].

Как видно из вышеприведенных данных, ПО отводится значительная роль в регуляции МС. Тем не менее, динамика нейронной активности этой структуры в цикле бодрствование-сон изучена очень мало. К тому же литературные данные по этому вопросу носят случайный характер и противоречивы [6, 9, 13]. А между тем, гипоталамическая нейронная активность является более чувствительным показателем различных фаз сна, чем ЭЭГ или ЭМГ [16].

Лишь в последнее время появилось несколько работ [11, 12], в которых

## МЕТОДИКА

Опыты ставились на 10 белых крысах. Под гексанальвым наркозом (100 мл/кг) в черепе просверливали трепанационное отверстие и монтировали в нем механический миниатюрный манипулятор. Центр для отверстий на черепе определяли по атласу Буреша и др. [5] (рис. 1). В

показано, что в ПО существует два типа нейронов — активирующиеся либо на фоне бодрствования и парадоксального сна (ПС), либо на фоне МС. Однако и в этих исследованиях данные приводятся наряду с фактами о нейронной активности других образований базального переднего мозга.

Целью нашей работы являлось систематическое наблюдение и анализ динамики нейронной активности ПО в различных фазах и стадиях цикла бодрствование-сон.

из плексигласа, имеющие резьбу на внутренней поверхности. Для ограничения пульсации на дне «колодца» натягивалась пленка парафильма. Идентификация различных фаз и стадий цикла бодрствование-сон производилась путем регистрации электрокортикограммы, электрогиппокампограммы и электроокулограммы.

Микроэлектроды из вольфрамовой проволоки диаметром 200—250 мкм электрически затачивались в 6%-ном растворе NaOH (ток 0,1—0,2 А). Затем электроды по всей поверхности, за исключением кончика, изолировались специальным лаком (АК-113). Сопротивление электродов равнялось примерно 5—10 МОм. Микроэлектроды погружались в мозг с помощью манипулятора, завинченного в «колодец». Один шаг микроманипулятора перемещал электрод на 50 мкм.

Отведенные внеклеточно потенциалы действия нейронов через миниатюрный катодный повторитель подавались на усилители двухлучевого осциллографа. Регистрация разрядов нейронов производилась на фотопленке с экрана осциллографа, на магнитной пленке и (после амплитудного дискриминирования) на бумаге параллельно с электроэнцефалограммой. Запись на магнитной пленке обрабатывалась с помощью микро-ЭВМ «Анонс-101». Многоканальный дискриминатор давал возможность выделить один или несколько нейронов в случае мультинейронной регистрации. На бумаге записывалась активность только одного нейрона, имевшего наиболее высокоампли-

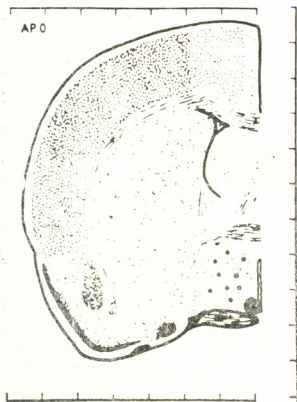


Рис. 1. Фронтальный срез мозга крысы на уровне преоптической области (по атласу Буреша и сотр. [5]). Черными кружками обозначены места регистрации нейронной активности

отверстие вставляли и укрепляли норакрилом цилиндрические «колодцы»



тудные пики, а при составлении гистограмм обработке подвергалась активность всех нейронов, выделяемых дискриминатором. Во избежание ошибок, вносимых шумом, активность нейрона с наиболее низкой амплитудой пиков не анализировалась. По окончании опытов через микроэлектрод пропускали постоянный ток (2 мА, 60 с), животных забивали, а мозг фиксировали в 10%-ном раство-

ре формалина. Ход микроэлектрода и конечная позиция его кончика определялась на серийных фронтальных срезах толщиной 20 мкм. Данные обрабатывались статистически. Рассчитывались средние величины, их стандартные отклонения и достоверность наблюдаемых изменений по t-критерию Стьюдента.

### РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Детальный анализ наших данных (анализу подвергалась активность 40 нейронов, которая регистрировалась для каждой клетки в течение двух или более циклов Б-С) показал,

что по характеру динамики в цикле Б-С в ПО можно выделить 3 основные группы нейронов. Первый тип характеризуется самой высокой частотой разрядов во время запуска и на про-

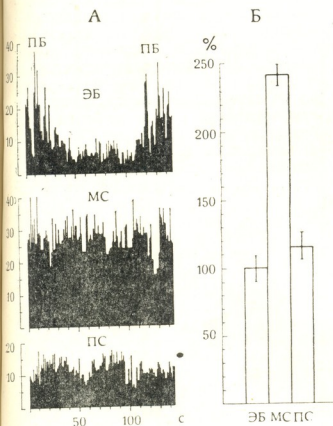


Рис. 2. Динамика активности нейрона первого типа преоптической области в различных фазах и стадиях цикла бодрствования — сон: А — частотограммы фоновой импульсной активности (по оси абсцисс — время, с, по оси ординат — количество импульсов за 1с); Б — результаты статистической обработки (за 100% взята средняя частота активности нейрона во время эмоционального бодрствования); ЭБ — эмоциональное бодрствование; МС — медленноволновой сон; ПС — парадоксальный сон; разница между МС и ЭБ, ПС достоверна ( $p < 0,001$ )

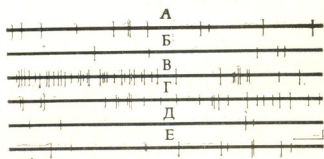


Рис. 3. Осциллографическая запись мультинейронной активности преоптической области в различных фазах и стадиях цикла бодрствование — сон; А — пассивное; Б — эмоциональное бодрствование, В, Г — медленноволновый сон; Д — эмоциональная и Е — неэмоциональная стадии парадоксального сна; калибровка — 100 мс, 100 мкв

тяжении МС, по сравнению как с эмоциональным бодрствованием (ЭБ), так и ПС (рис. 2А). Статистическая обработка данных показывает высокую достоверность изменения активности этих нейронов по фазам цикла Б-С (рис. 2Б). Нейроны этого типа составили 40% из всех зарегистрированных единиц.

На рис. 3 приводится осциллографическая запись мультинейронной активности ПО во время различных фаз и стадий цикла Б-С. Сравнение активностей при различных состояниях показывает, что нейроны со сравнительно большой амплитудой спайкового разряда, высококачественно разряжающиеся во время МС (рис. 3В, Г), уменьшают ритм разрядов с раз-

втием пассивного бодрствования (рис. 3А) на фоне легкой синхронизации ЭЭГ. При ЭБ, когда на ЭЭГ наблюдается десинхронизация электрической активности новой коры, а в гиппокампе развивается тета-ритм,

шой амплитудой» спайков тормозится (рис. 3Д), как и в случае ЭБ на фоне так называемой неэмоциональной стадии ПС (рис. 3Е) частота разрядов почти такая же, как и во время пассивного бодрствования. Нужно отметить, что во время бодрствования и ПС значительно уменьшаются активность по сравнению с МС и те нейроны данной постуляции, которые имеют более низкую амплитуду спайкового разряда (рис. 3).

Ко второму типу нейронов были отнесены те единицы ПО, которые увеличивали свою активность во время ЭБ и ПС. При этом частота разрядов в МС была значительно ниже, чем в двух вышеописанных состояниях (рис. 4А). Как показал анализ распределения межимпульсных интервалов этих нейронов, при ЭБ и ПС паттерн активности одинаков. В частности, в это время главным образом преобладают короткие интервалы. В МС происходит перестройка паттерна разрядов — появляются более длительные интервалы, количество которых варьирует гораздо в большем диапазоне, чем в ЭБ и ПС, а численность некоторых из них достигает уровня малых интервалов (рис. 4Б). Нейроны такого типа со-

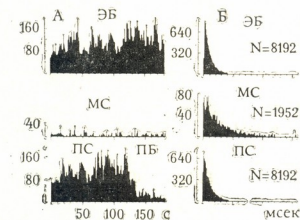


Рис. 4. Динамика активности нейрона второго типа преоптической области в различных фазах цикла бодрствование — сон: А — частотные гистограммы фоновой импульсной активности; Б — гистограммы межимпульсных интервалов. По оси абсцисс — время в с (для А) и мс (для Б); по оси ординат — количество импульсов за 1 с (для А) и количество интервалов (для Б). Обозначения те же, что и на рис. 2

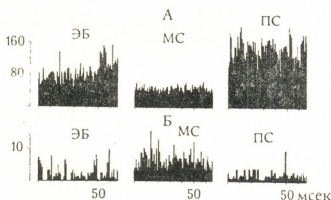


Рис. 5. Динамика активности двух разных нейронов преоптической области в цикле бодрствование — сон: А, Б — частотные гистограммы фоновой активности. По оси абсцисс — время в с, по оси ординат — количество импульсов за 1 с; обозначения те же, что и на рис. 2

данный нейрон почти полностью тормозится (рис. 3Б). Интересная закономерность чередования активности отмечается и при ПС. В частности, при так называемой эмоциональной стадии ПС разряды нейронов с «боль-

ставляли 52% из всех зарегистрированных единиц.

В ПО можно зарегистрировать малочисленную (8%) группу нейронов, которые не меняли свою активность при смене фаз и стадий цикла Б-С.



Эти нейроны составляли третий тип.

При рассмотрении данных о нейронной активности ПО следует указать, что иногда в одном и том же пуле, одним и тем же электродом можно регистрировать единицы, которые по характеру динамики активности вели себя противоположно. Пример вышесказанного представлен на частотных гистограммах, где хорошо видна реципрокность между

активностями двух нейронов при смене одного физиологического состояния другим (рис. 5). Создается впечатление, что нейроны, показывающие наивысшую частоту в МС (рис. 5Б), характеризуются более высокой амплитудой спайкового разряда по сравнению с теми единицами, которые увеличивали ритм разрядов в связи с активацией мозга как при ЭБ, так и ПС (рис. 5А).

### ОБСУЖДЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ

Многочисленные экспериментальные данные, полученные вследствие применения различных методик исследования (электрическое и химическое раздражение, повреждения, перерезки), указывают на важное значение ПО в формировании МС [2, 3, 8, 12—15, 19—23].

Изучение динамики нейронной активности этой области гипоталамуса в цикле Б-С показало, что довольно-таки большой процент нейронов высокоактивируется на фоне МС и уменьшает частоту разрядов при ЭБ и ПС. Все вышесказанное указывает на то, что в ПО существует механизм, который участвует как в запуске, так и поддержании МС, так как эти нейроны увеличивают ритм разрядов не только с наступлением синхронизации электрической активности, но и на протяжении всего МС. В наших экспериментах, при регистрации мультинейронной активности, одним и тем же электродом из одного и того же пуля можно было регистрировать нейроны, противоположно ведущие себя в цикле Б-С: одни активируются на фоне МС, другие же при ЭБ и ПС. Это указывает на то, что в ПО существует определенный тип «синхронизирующих единиц», которые образуют сеть нейронов, связанных с другими структурами мозга и играющих критическое важное значение для регуляции МС. Можно предположить, что посредством влияния на другие структуры головного мозга ПО осуществляет свою функцию в аспекте организации сна. Тем более, что она связана с такими важнейшими образованиями мозга (в смысле их участия в организации самых сложных поведенческих актов, включая цикл Б-С), как орбитальная кора, гиппокамп, миндалина, таламус,

МРФ [20]. Особо нужно отметить связь ПО с серотонинергической и холинергической системами среднего мозга, которым, как известно, приписывается важная роль в регуляции цикла Б-С [10].

При регистрации мультинейронной активности ПО наше внимание было привлечено следующим фактом: в большинстве случаев нейроны, показывающие наивысшую активность при МС, характеризовались сравнительно большой амплитудой спайкового разряда. Это обстоятельство особенно четко вырисовалось при анализе данных о той популяции клеток, в которой часть активировалась при синхронизации электрической активности, а часть — при активации мозга во время ЭБ и ПС. Почти всегда первый тип нейронов характеризовался «большой» амплитудой спайкового разряда. С учетом тех трудностей, которые возникают для подобных интерпретаций при внеклеточном отведении потенциалов действия, можно допустить, что эти нейроны являются сравнительно крупными нервными клетками с выходящими за пределы ПО аксонами. На такую возможность указывают существующие литературные данные [1, 4, 7], согласно которым амплитуда разряда может отражать размер клетки. В условиях внеклеточного отведения мультинейронной активности, видимо, именно эти единицы и являются основой нейронной сети в ПО, определяющей формирование МС. Их можно рассматривать как триггерные клетки, имеющие длинные аксоны, посредством которых они могут влиять на другие образования мозга. Такое предположение подкрепляется тем фактом, что эти единицы селективно активируются на фоне развития синхрони-

зации ЭЭГ, а при ЭБ и ПС почти полностью тормозятся.

На наличие в ПО таких триггерных нейронов указывают и другие данные. В частности, на *serveau isole* препаратах, при отсутствии влияния со стороны ядер шва, РФ продолговатого мозга и солитарного тракта, наблюдается развитие синхронной медленной электрической активности, которая чередуется с фрагментами десинхронизации ЭЭГ [23]. В этих условиях активность, характерная для МС, видимо, запускается и формируется главным образом преоптической

областью. Эта точка зрения подтверждается экспериментами, в которых показано, что обширное повреждение этой области у животных с перерезкой на уровне передних бугров четверохолмия (*serveau isole* препараты) вызывает резкое подавление паттерна, характерного для МС [15].

В целом, в результате изучения динамики нейронной активности ПО, можно предположить, что оно является критически важным звеном в сложной системе головного мозга, ответственного за запуск и поддержание МС.

## ЛИТЕРАТУРА

1. Гасанов У. Г. Успехи физиологических наук, 12, 62—85, 1981.
2. Гветадзе Л. Б. Изв. АН ГССР, сер. Биол., 1, 4, 391—399, 1975.
3. Bremer F. Brain Res., 21, 132—134, 1970.
4. Buchwald J. S., Grover F. S. J. Neurophys., 33, 148—159, 1970.
5. Bures J., Petran M., Zachar J. Electrophysiological methods in biological research. Prague, Academic Publishing house of Czechoslovak Academy of Sciences, 1967.
6. Findlay A. L. R., Hayward J. N. J. Physiol., 201, 237—258, 1969.
7. Henneman E., Somjen G., Carpenter D. O. J. Neurophysiol., 28, 560—580, 1965.
8. Hess W. R. Physiol. Arch. Psychiat. Nervenkr., 194, 548—557, 1936.
9. Jacobs B. L., Harper R. M., McGinty D. J. Physiol. Behav., 5, 1139—1143, 1970.
10. Jouvet M. In: Basic sleep mechanisms. New York, London, Academic Press, 1974, 207—237.
11. Kaitin K. I. Exp. Neurol., 83, 347—357, 1984.
12. Lucas F. A., Sterman M. B. Exp. Neurol., 46, 368—388, 1975.
13. Mink W. D., Best P. L., Olds I. Science, 158, 1335—1337, 1967.
14. Nakamura Y., Goldberd L. J., Clemente C. D. Brain Res., 6, 184—198, 1967.
15. Nakata K., Kawamura H. Physiol. Behav., 36, 1167—1172, 1986.
16. Parmeggiani P. In: The sleeping brain. Los Angeles, Brain Research Institute, 1972, 108—111.
17. Ranson S. W. Arch. Neur. Psychiatr., 41, 1—23, 1939.
18. Sauerland E., Knauss T., Nakamura Y., Clemente C. Exp. Neurol., 17, 159—171, 1967.
19. Sterman M. B., Clemente C. D. Exp. Neurol., 6, 103—117, 1962.
20. Sterman M. B., Clemente C. D. In: Basic sleep mechanisms. New York, London, Academic Press, 1974, 83—97.
21. Sterman M. B., Fairchild M. D. Brain Res., 2, 205—217, 1966.
22. Szymusiak R., Satinoff E. In: Brain mechanisms of sleep. New York, Raven Press, 1985, 301—319.
23. Villablanca J. Electroenceph. Clin. Neurophysiol., 19, 276—286, 1965.
24. Von Economo C. Ergebn. Physiol., 28, 312—339, 1929.

პროპაგანდისტური უზენის ნეირონული აქტივობის დინამიკა  
ძილ-ლვიძილის ციკლში

შ. მანჯავიძე, ლ. ზვიბაძე, თ. ონიანი

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

რ ე ზ ი მ ე

ვირთავევებზე თავისუფალი ქცევის პირობებში შეისწავლებოდა პროპაგანდისტური უზენის ნეირონული აქტივობის დინამიკა

ძილ-ლვიძილის ციკლში. ნეირონების 40% ყველაზე მაღალი სიხშირით განიმუხტება ნელი ძილის დროს; მეორე ჯგუფის ნეი-



რონების (52 %) აქტივობა უფრო მაღალია ემოციური ღვიძილისა და პარადოქსული ძილის ფაზებში. მხოლოდ ნეირონების 8 % არ ცვლიან თავიანთ აქტივობას ძილ-ღვიძილის ციკლის ფაზებისა და სტა-

დიების მონაცვლეობის დროს. განიხილება პრეოპტიკური უბნის მონაწილეობა წელი ძილის გაშვებისა და შენარჩუნების მექანიზმებში.

DYNAMICS OF NEURONAL ACTIVITY OF THE PREOPTIC AREA IN THE SLEEP-WAKEFULNESS CYCLE

Sh. D. MANJAVIDZE, L. B. GBETADZE, T. N. ONIANI

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

S u m m a r y

Dynamics of neuronal activity of the preoptic area in the sleep-wakefulness cycle was studied in free moving rats using mobile metallic microelectrodes. Computer analysis and statistical treatment of the data have shown that the majority of neurons (52 %) in the above-mentioned area discharge with high frequencies during emotional wakefulness and paradoxical sleep, as compared with slow wave sleep. A comparatively small number of neurons (40 %) show inverse dynamics of activity. They fire more

intensively during slow wave sleep and the frequency of discharges decreases during emotional wakefulness and paradoxical sleep. Some neurons (8 %) which show no statistically significant difference in the discharge frequency in the different phases of the sleep-wakefulness cycle are found in preoptic area.

The involvement of preoptic area in the neurophysiological mechanisms of triggering and maintenance of slow wave sleep is discussed.

## ПРИВЫКАНИЕ НЕЙРОНА ППа4 ВИНОГРАДНОЙ УЛИТКИ К ЛОКАЛЬНЫМ АППЛИКАЦИЯМ АЦЕТИЛХОЛИНА НА РАЗНЫЕ ЗОНЫ СОМАТИЧЕСКОЙ МЕМБРАНЫ

Г. Н. Саганелидзе, А. С. Пивоваров

*Московский государственный университет им. М. В. Ломоносова*

Поступила в редакцию 16.10.1986

Сопоставлены динамики угашения реакций нейрона ППа4 виноградной улитки в процессе последовательных серий ритмических подведений ацетилхолина из двух форетических пипеток к разным участкам сомы. У нейронов первой группы динамики угашения реакций отличаются, а у нейронов второй группы — нет. Блокаторы мускариновых холинорецепторов (атропин, платифиллин) и никотиновых холинорецепторов (d-тубокурарин) по-разному угнетают реакции нейронов первой группы на подведение ацетилхолина к разным зонам мембраны. Реакция, угашаемая быстрее и глубже, подавляется в большей степени блокаторами мускариновых холинорецепторов, а угашаемая медленнее и слабее — блокаторами никотиновых холинорецепторов. Мускариновые и никотиновые холиноблокаторы в равной степени подавляют реакции нейронов второй группы на подведение ацетилхолина к разным зонам мембраны. Сделан вывод, что одной из причин неодинакового угашения реакций нейрона ППа4 является вариабельность соотношения никотиновых и мускариновых холинорецепторов в зонах мембраны, активируемых повторным стимулом.

Динамика угашения реакций одного и того же нейрона виноградной улитки в ходе многократных локальных ионофоретических аппликаций одинаковых порций ацетилхолина (АХ) зависит от локализации кончика форетической пипетки на мембране [1—4]. Учитывая неодинаковую чувствительность к АХ на поверхности тела клетки из-за разной плотности холинорецепторов [2—4, 7], одной из причин несовпадения динамики десенситизации разных холинорецептивных зон мембраны можно считать отличие степени их активации, судя по разнице на подведение к ним АХ (АХ-реакций).

Популяция холинорецепторов сомы нейрона ППа4 виноградной улитки гетерогенна: она включает рецепторы, блокируемые никотиновым анта-

гонистом d-тубокурарином (идентифицированы как никотиновые холинорецепторы — nXP) и мускариновыми антагонистами атропином и платифиллином (идентифицированы как мускариновые холинорецепторы — mXP) [5]. Как оказалось, эти типы рецепторов отличаются скоростью и глубиной обратной десенситизации при повторных аппликациях АХ на мембрану [5]. Поэтому другой вероятной причиной неодинакового привыкания реакций к АХ, апплицируемому ритмически на разные участки мембраны, может быть разное соотношение в них nXP и mXP. В связи с этим в данной работе изучена связь динамики привыкания АХ-реакций с соотношением разных типов холинорецепторов на мембране.

Эксперименты проведены на идентифицированных нейронах ППа4 [6] из правого парietального ганглия улитки (*Helix lucorum taurica* Kryn) в препарате изолированной центральной нервной системы при комнатной температуре (18—22°).

Околوجلоточное нервное кольцо фиксировали в проточной камере

в дистиллированной воде (4 М, рН 7,0; Serva, ФРГ; подщелачивание NaOH), а также компенсирующий микроэлектрод, заполненный 2 М раствором NaCl, который служил для балансировки форетических токов. Сопротивление форетических пипеток составляло 30—80 МОм. АХ выводили из пипеток катионными токами

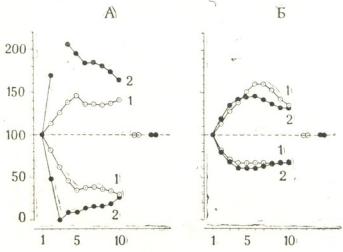


Рис. 1. Изменение латентного периода и количества спайков в реакциях нейронов ППа4 при ритмических аппликациях АХ на разные зоны соматической мембраны: А — нейрона первой, Б — второй группы; по оси абсцисс — порядковый номер аппликации АХ, по оси ординат — латентность коротколатентного вызванного спайка (вверху), количество пиков (внизу) АХ-реакции, в % к контрольным величинам до начала серии

объемом 1 мл. После обработки препарата 1%-ным раствором коллагеназы (Boehringer Mannheim, ФРГ) в растворе Рингера в течение 30 мин при комнатной температуре удаляли соединительнотканые оболочки, покрывающие ганглии. Через камеру непрерывно со скоростью 1 мл/мин протекал раствор Рингера следующего состава: 100 мМ NaCl, 4 мМ KCl, 10 мМ CaCl<sub>2</sub>, 4 мМ MgCl<sub>2</sub>, 10 мМ трис-HCl, рН 7,5.

Внутриклеточно регистрировали потенциалы нейронов микропипетками из стекла марки «пирекс»; сопротивление электродов составляло 100—150 МОм. Потенциалы записывали на чернильном самописце. К наружной поверхности сомы нейрона подводили две форетические пипетки, заполненные раствором АХ-хлорида

(70—1440 нА, 1—5 с). Для подведения регистрирующего микроэлектрода, форетических пипеток и компенсирующего электрода применяли механические микроманипуляторы (Leitz, ФРГ; КМ-2 и СЭЖ-1).

Эксперименты состояли из нескольких этапов. 1) Уравняв величины реакций на форез АХ из первой и второй форетических пипеток (АХ<sub>1</sub>- и АХ<sub>2</sub>-реакций), подавали последовательные серии ритмических аппликаций АХ сначала из первой, а затем из второй пипеток для достижения угашения АХ<sub>1</sub>- и АХ<sub>2</sub>-реакций. Серия стимулов включала N+K (N=10—20, K=1—4) последовательных выведений АХ форетическим током постоянного направления, силы и длительности. В зависимости от

длительности АХ-реакций у разных нейронов интервалы между повторными стимулами с первого по N-й составляли 40—70 с. Межстимульные интервалы в серии варьировали в случайном порядке на 1—5 с по длительности. Стимулы (N+K)-е наносили с интервалом 5—15 мин для оценки степени и скорости восстановления угашенной в серии АХ-ре-

акции, и вводили в нее никотиновый холинорецепторный блокатор (d-тубокурарин, Швейцария) микропипеткой в объеме 10—50 мкл так, что расчетная концентрация этого соединения составляла  $10^{-5}$ — $10^{-4}$  М. Сравнивали степень подавления АХ<sub>1</sub>- и АХ<sub>2</sub>-реакций блокатором nXP. Выведения АХ из разных пипеток проводили через 10—20 мин.

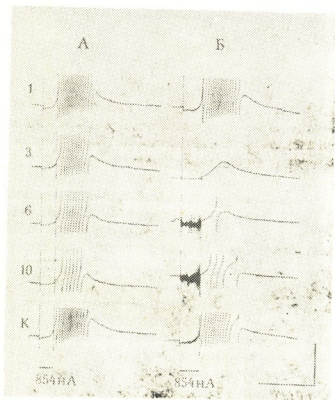


Рис. 2. Угашение реакций нейрона ППа4 первой группы при ритмической аппликации АХ на две разные зоны соматической мембраны: А — серия угашения АХ<sub>1</sub>-реакции; Б — АХ<sub>2</sub>-реакции одного нейрона. Слева каждой записи порядковый номер аппликации АХ; К — контрольная АХ-реакция спустя 40 мин (А) и 22 мин (Б) после окончания ритмического раздражения. Линии под записями здесь и на остальных рисунках — отметка длительности тока ионофореза, сила тока в нА указана под отметкой. Интервалы между повторными стимулами в сериях — 69—65 с. Калибровка: потенциала — 20 мВ, времени — 20 с

акции. Количество повторных стимулов и интервалы между ними в сериях угашения АХ<sub>1</sub>- и АХ<sub>2</sub>-реакций были одинаковые. Серию угашения АХ<sub>2</sub>-реакции начинали спустя 15—30 мин после полного восстановления угашенной в предыдущей серии АХ<sub>1</sub>-реакции.

2) Перекрывали проток раствора Рингера на входе и выходе из каме-

3) Включали проток раствора Рингера и промывали проточную камеру с препаратом в течение 15—30 мин, добиваясь полного восстановления угашенной АХ-реакции.

4) Перекрывали проток раствора Рингера на входе и выходе из камеры, и вводили в нее один из мускариновых холинорецепторных блокаторов (атропин сульфат: Serva, ФРГ; платифиллин



гидротартрат: Минмедпром СССР) микропипеткой в объеме 10—50 мкл, так, что расчетная концентрация этих соединений составляла  $10^{-5}$ — $10^{-4}$  М. Сравнивали степень подавления этих соединений AX<sub>1</sub>- и AX<sub>2</sub>-реакций.

5) Повторение третьего этапа. В

Каждую из этих клеток регистрировали 5—10 ч. Сравнивали динамику угашения AX<sub>1</sub>- и AX<sub>2</sub>-реакций серии повторных стимулов, а также степень подавления этих реакций блокаторами нХР и мХР. В AX-реакции измеряли максимальную амплитуду деполаризационного потенциала, ла-

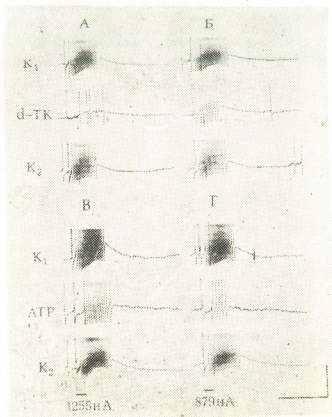


Рис. 3. Влияние d-тубокурарина и атропина на AX-реакции нейрона ППа4 первой группы при подведении AX к двум разным зонам соматической мембраны: А, В — AX<sub>1</sub>-реакции, С, Д — AX<sub>2</sub>-реакции; А, Б — влияние  $5 \cdot 10^{-5}$  М d-тубокурарина: К<sub>1</sub> — реакция до воздействия холинблокатора, d-ТК — после добавления в проточную камеру d-тубокурарина; К<sub>2</sub> — после отмывания никотинового холинблокатора из камеры; В, Д — влияние  $5 \cdot 10^{-5}$  М атропина: К<sub>1</sub> — реакция до воздействия холинблокатора, АТР — после добавления в проточную камеру атропина, К<sub>2</sub> — после отмывания мускаринового холинблокатора из камеры. Калибровка: потенциала — 20 мВ, времени — 20 с

разных опытах варьировали очередность применения холинблокаторов.

Результаты получены на 11 нейронах ППа4 из 11 препаратов центральной нервной системы улитки.

#### РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

Величины AX<sub>1</sub>- и AX<sub>2</sub>-реакций всех исследованных нейронов в ответ на подведение AX к разным зонам со-

тентность вызванного спайкового разряда и количество пиков в нем. Проводили статистическую обработку результатов, используя критерии Стьюдента и знаков.

мы клеток из двух пипеток, имевших близкие сопротивления, при пропускании через каждую из них форети-

ческого тока одинаковой величины и длительности, отличались ( $P < 0,01$ ). Серии угашения  $AХ_1$ - и  $AХ_2$ -реакций начинали, предварительно уравнив их величины путем изменения силы фотического тока.

Сравнив кривые угашения  $AХ_1$ - и  $AХ_2$ -реакций, выделили две группы нейронов ППА4. Динамики угашения

Блокаторы  $nХР$  и  $mХР$  в концентрации  $5 \cdot 10^{-5} - 10^{-4}$  М уменьшали в разной степени  $AХ$ -реакции первой группы на выведение  $AХ$  из разных пипеток. Как видно на рис. 3,  $d$ -тубокурарин сильнее подавлял  $AХ_1$ -реакцию, которая угашалась в серии медленнее и слабее, а атропин в большей степени уменьшал  $AХ_2$ -ре-

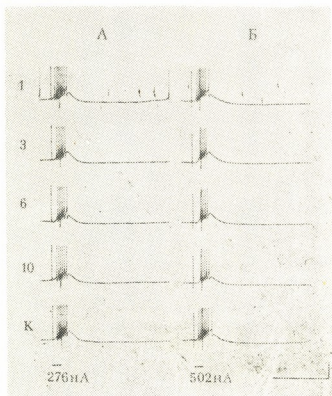


Рис. 4. Угашение реакций нейрона ППА4 второй группы при ритмической аппликации  $AХ$  на две разные зоны соматической мембраны: А — серия угашения  $AХ_1$ -реакции, Б —  $AХ_2$ -реакции одного нейрона. Слева каждой записи порядковый номер аппликации  $AХ$ ; К — контрольная  $AХ$ -реакция спустя 9 мин (А) и 5 мин (Б) после окончания ритмического раздражения. Интервалы между повторными стимулами 50—55 с. Калибровка: потенциала — 20 мВ, времени — 20 с

шения  $AХ_1$ - и  $AХ_2$ -реакций нейронов первой группы (8 клеток) отличались, а нейронов второй группы (3 клетки) — нет. На рис. 1, А и 2 показано угашение  $AХ_1$ - и  $AХ_2$ -реакций одного из нейронов первой группы. Несмотря на равенство обеих реакций в начале серии, одинаковое количество повторных стимулов и равные интервалы между ними в сериях угашения, депрессия  $AХ_2$ -реакции развивалась быстрее и глубже ( $P < 0,001$ ), а восстановление шло медленнее.

акцию, которая угашалась быстрее и глубже.

На рис. 1, Б и 4 показано угашение  $AХ_1$ - и  $AХ_2$ -реакций нейрона второй группы. Видно, что динамики угашения этих реакций практически не отличались ( $P > 0,05$ ).

Никотиновый и мускариновые холинблокаторы в концентрациях  $5 \cdot 10^{-5} - 10^{-4}$  М уменьшали в равной степени  $AХ_1$ - и  $AХ_2$ -реакции нейронов второй группы. На рис. 5 показано одинаковое подавление  $d$ -тубокурарином и атропином  $AХ_1$ - и  $AХ_2$ -

реакций нейрона этой группы, кривые угашения которых не отличались.

Неодинаковое подавление блокаторами нХР и мХР АХ-реакций одного и того же нейрона первой группы при аппликациях АХ на разные зоны соматической мембраны свидетельствует о разном соотношении в них нХР и мХР. Близкую степень подавления АХ-реакций нейронов второй группы можно трактовать как след-

ствия мембраны нейрона, можно предположить, что в большинстве зон соматической мембраны нейрона ППа4 соотношение разных типов холинорецепторов неодинаковое, а в некоторых зонах разные холинорецепторы находятся приблизительно в равных количествах.

Ритмическая активация АХ холинорецепторной зоны мембраны приводит к более быстрому и глубокому развитию привыкания нейрона ППа4

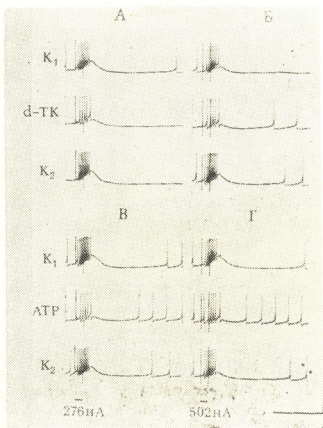


Рис. 5. Влияние d-тубокуарина и атропина на АХ-реакции нейрона ППа4 второй группы при подведении АХ к двум разным зонам соматической мембраны: А, Б— влияние  $5 \cdot 10^{-5}$  М d-тубокуарина; В, Г—  $5 \cdot 10^{-5}$  М атропина; остальные обозначения как на рис. 3. Калибровка: потенциала— 20 мВ, времени— 20 с

ствии равного соотношения нХР и мХР в зонах мембраны, активируемых АХ из двух форетических пипеток. Поскольку все опыты проведены на нейронах одного типа— ППа4, маловероятно, что в одних нейронах распределение разных холинорецепторов гетерогенно по всей мембране, а в других— гомогенно. Учитывая, что каждая из двух форетических пипеток подводилась в отдельных экспериментах, скорее всего, не к одной и той же зоне соматической

2. Серия биологическая, т. 13, № 6

в том случае, если в популяции активируемых холинорецепторов преобладают мХР. Если же в холинорецепторной зоне мембраны больше доля нХР, привыкание развивается медленнее и слабее. Поэтому одной из вероятных причин различия динамик привыкания в ходе многократных подведений АХ к разным зонам соматической мембраны нейрона ППа4 может быть вариабельность соотношения в них нХР и мХР.

Всё это... 377/1/10  
603/103/103/103

18562

1. Греченко Т. Н., Соколов Е. Н. Биол. науки, 9, 5—21, 1979.
2. Мартинес-Солер Р. Локальная пластичность пейсмекерных нейронов моллюсков, Автореф. канд. дисс. М., 1975.
3. Мартинес-Солер Р., Греченко Т. Н., Соколов Е. Н. Ж. высш. нервн. деят., 26, 433—435, 1976.
4. Норекия Т. П., Логунов Д. Б., Соколов Е. Н. Нейрофизиология, 17, 530—538, 1985.
5. Пивоваров А. С., Саганелидзе Г. Н. В кн.: Современные проблемы нейробиологии. Тез. Всесоюз. конфер., посвящ. 50-летию Института физиологии им. И. С. Бериташвили (2—5 окт. 1986 г., Тбилиси), «Мецниереба», Тбилиси, 1986, 293—294.
6. Сахаров Д. А. Генеалогия нейронов, «Наука», М., 1974.
7. Levitan H., Taub L. J. Physiol., 222 537—558, 1972.

ვაზის ლოკოკინის ნეირონ მპა4-ის უმჩვევამ სომატური მემბრანის სხვადასხვა უბნებში აცეტილქოლინის ლოკალური აპლიკაციებისადმი

ზ. საბანელიძე, ა. პივოვაროვი

მოსკოვის მ. ლომონოსოვის სახელობის სახელმწიფო უნივერსიტეტი

რეზიუმე

ვაზის ლოკოკინის ნეირონ მპა 4-ის სომის სხვადასხვა უბნებთან ორი ფორეტული პიპეტით აცეტილქოლინის რითმული მიწოდების თანამიმდევრული სერიების პროცესში შედარებულია ამ უბნებში რეაქციის ჩაქრობის დინამიკა. პირველი ჯგუფის ნეირონებში რეაქციის ჩაქრობის დინამიკები განსხვავებულია, ხოლო მეორე ჯგუფში — არა. აცეტილქოლინის მიწოდებისას მემბრანის სხვადასხვა უბნებთან პირველი ჯგუფის ნეირონების რეაქცია არაერთნაირად ითრგუნება მუსკარინული (ატროპინი, პლატიფლინი) და ნიკოტინური (d-ტუბოკურარინი) ქოლინორეცეპტორების ბლოკატორებით. რეაქცია, რომელიც მცირდება შედარებით სწრაფად და ძლიერად, უფრო მეტად ითრგუნება მუს-

კარინული ქოლინორეცეპტორების ბლოკატორებით, ხოლო ის რეაქცია, რომელიც მცირდება უფრო ნელა და სუსტად — ნიკოტინური ქოლინორეცეპტორების ბლოკატორებით. მუსკარინული და ნიკოტინური ქოლინობლოკატორები თანაბრად ითრგუნავენ მეორე ჯგუფის ნეირონების რეაქციას აცეტილქოლინის მემბრანის სხვადასხვა უბნებთან მიწოდებაზე. გაკეთებულია დასკვნა, რომ ნეირონ მპა 4-ის რეაქციების არათანაბარი ჩაქრობის ერთერთ მიზეზს წარმოადგენს მემბრანის სხვადასხვა უბნებში განმეორებადი სტიმულებით აქტივირებული ნიკოტინური და მუსკარინული ქოლინორეცეპტორების არათანაბარი განაწილება.

HABITUATION OF HELIX LUCORUM'S NEURON RPa4 TO ACETYLCHOLINE LOCALLY APPLIED TO DIFFERENT ZONES OF THE SOMATIC MEMBRANE

G. N. SAGANELIDZE, A. S. PIVOVAROV

Moscow Lomonosov State University, USSR

S u m m a r y

Extinction patterns of Helix Lucorum's neuronal (RPa4) responses to repeated series of rhythmic application of acetylcholine to different somatic zones

from two phoretic pipettes were compared. In the first group of neurons the dynamics of response extinction differed, in the neurons of the second group it



did not. Blockers of muscarinic (atropine, platyphillin) and nicotinic (d-tubocurarine) cholinoreceptors were found to inhibit in a different way, in the first group of neurons, neuronal responses to acetylcholine applied to different membrane zones. A response with a faster and deeper extinction is inhibited to a greater extent by the blockers of muscarinic cholinoreceptors, while a response with a slower and weaker extinction is inhibited mostly by the blockers of

nicotinic cholinoreceptors. In the neurons of the second group muscarinic and nicotinic cholinoblockers equally inhibit neuronal responses to acetylcholine applied to different zones of the membrane. It is concluded that one of the reasons for non-uniform extinction of RPa4 neuron response lies in the variability of the ratio between muscarinic and nicotinic cholinoreceptors in membrane zones activated by repeated stimulus.

УДК 616.831—005.3

ФИЗИОЛОГИЯ ЧЕЛОВЕКА И ЖИВОТНЫХ

## ИЗУЧЕНИЕ ГАЗОВОГО СОСТАВА КРОВИ ПРИ АЛКОГОЛЬНОЙ ИНТОКСИКАЦИИ РАЗЛИЧНОЙ СТЕПЕНИ

З. А. Зурабашвили, Н. А. Бакурадзе

*НИИ психиатрии МЗ ГССР, Тбилиси*

Поступила в редакцию 18.11.1986

В условиях острого эксперимента создавалась модель алкогольной интоксикации с соответствующей концентрацией этанола в крови крыс. Методом газо-жидкостной хроматографии определяли  $pO_2$ ,  $pCO_2$  и pH венозной и артериальной крови. Исследования показали, что этанол увеличивает напряженность  $pCO_2$  в артериальной и венозной крови. В соответствии со степенью интоксикации нарушения достоверно возрастают. При легкой, средней и тяжелой степенях алкогольной интоксикации  $pO_2$  в притекающей к мозгу крови понижается. Снижается утилизация кислорода мозговой тканью, в результате чего артерио-венозная разница  $pO_2$  падает.

В патогенезе нарушений мозгового кровообращения употребление алкоголя играет особую роль.

Значение кровеносных сосудов в питании мозга, ликворообразовании, отвода от него продуктов метаболизма и поддержании постоянства физико-химического состава показано многими авторами [1, 3, 4, 6, 7].

Однако, несмотря на большое число работ по исследованию действия этанола на центральную нервную систему человека, его влияние на мозговое кровообращение и его регуляцию окончательно не выяснено и по-прежнему остается важной задачей клинической медицины.

Важность изучения микроциркуляции при остром алкогольном опьянении и хроническом алкоголизме связана также с тем, что в патогенезе действия алкоголя большое место отводится гипоксии и токсическим продуктам метаболизма. В частности, в наркологической практике хорошо известны изменения в сосудистых руслах и тканях мозга при алкогольной интоксикации различной степени. Во время металкогольных психозов часто наблюдаются нарушения транспорта респираторных газов.

Известно, что этанол [9, 10] подавляет дыхательные процессы в тканях мозга. В этом аспекте принято обращать особое внимание на роль углекислоты в изменениях кровоснабжения мозга при алкогольном опьянении. При действии этанола происходит увеличение напряжения углекислоты в артериальной крови. Гиперкапния вызывает понижение тонуса мозговых сосудов и увеличение внутричерепного кровенаполнения. Видимо, увеличение внутричерепного кровенаполнения при действии этанола происходит вторично, вследствие нарушения регуляции системного давления. Известно, что при выраженных депрессорных сосудистых реакциях регуляторные механизмы оказываются недостаточными, в результате чего нарушается кровоснабжение мозга. Следует также учесть способность этанола блокировать Н-холинорецепторы симпатических ганглиев. В определенной мере эффект этанола может быть связан с его спазмолитическим свойством.

Нами проведены наблюдения над 40 больными алкоголизмом в первой, компенсированной стадии с повышенной толерантностью и сохраненной



трудоспособностью. Все больные — мужчины. Их возраст колебался от 20 до 25 лет. По клиническому состоянию и концентрации алкоголя в крови поступивших больных можно было разделить на 3 группы — легкой, средней и тяжелой степени опьянения.

Параллельно, в условиях острого эксперимента (белые крысы), создавали модель алкогольной интоксикации с соответствующей концентрацией этанола в крови. При легкой степени алкогольной интоксикации она соответствовала 0,5—2,6‰, в цельной крови, при средней 1,7—2,6‰, а при тяжелой — 2,7—3,1‰. Методом газожидкостной хроматографии определяли  $pO_2$ ,  $pCO_2$  и pH венозной и артериальной крови (табл. 1).

интоксикации регионарный мозговой кровоток уменьшался, а сопротивление вие сосудов увеличивалось.

При легкой, средней и тяжелой степенях алкогольной интоксикации имело место резкое понижение  $pO_2$  в притекающей к мозгу крови. Утилизация кислорода мозгом также была сниженной. Максимальное снижение  $pO_2$  и увеличение  $pCO_2$  наблюдалось на 40—50 мин после введения этанола, дозы которого соответствовали легкой интоксикации, в то время как при средней и тяжелой степенях указанный максимум наблюдался намного раньше (20 и 10 мин соответственно).

Проведенные нами наблюдения показали, что этанол влияет на кровоснабжение мозга, изменяя газовый

Таблица 1

Динамика газового состава крови крыс при остром действии алкоголя

Исследуемые показатели	До введения	Степень интоксикации								
		легкая			Средняя			тяжелая		
		Время исследования, мин								
		10	60	120	10	60	120	10	60	120
$pO_2$ ммНг	$72,5 \pm 4,1$	$69,0 \pm 1,0$	$67,5 \pm 2,1$	$71,0 \pm 1,5$	$62,3 \pm 1,4$	$60,0 \pm 3,3$	$63,0 \pm 1,4$	$58,0 \pm 2,1$	$54,8 \pm 1,0$	$60,0 \pm 2,0$
$pCO_2$ ммНг	$54,6 \pm 3,2$	$57,0 \pm 1,3$	$52,3 \pm 1,9$	$60,0 \pm 2,1$	$62,0 \pm 1,3$	$71,1 \pm 1,4$	$69,0 \pm 1,3$	$66,8 \pm 1,8$	$78,5 \pm 1,5$	$76,4 \pm 1,4$
Частота дыхания (мин)	105—140	100—120	110—138	100—110	110—120	130—140	120—130	120—130	130—140	130—140

Наши исследования показали, что этанол увеличивает напряженность  $pCO_2$  в артериальной и венозной крови. В соответствии с тяжестью интоксикации нарушения достоверно возрастают. В проведенных нами экспериментах, в которых артериальное  $pCO_2$  поддерживалось путем регулирования объема дыхания на постоянном уровне, при легкой степени алкогольной

состав крови и воздействуя этим на первые приборы мозговых сосудов. Для дальнейшего выяснения механизма действия этанола мы провели в условиях эксперимента анализ корреляции мозгового кровотока с изменениями pH,  $pO_2$  и  $pCO_2$  крови. Говоря об изменении pH крови при алкогольной интоксикации различной степени, необходимо указать на работы



[2, 5], показавшие, что при легкой и средней степенях нарушается, в основном, буферная емкость крови. Наши наблюдения показали, что только в случаях тяжелой степени алкогольной интоксикации наблюдается незначительный сдвиг рН. Можно предположить, что он, в основном, связан с наблюдаемыми при остром действии алкоголя гипоксическими явлениями в центральной нервной системе. На возможную гипоксию в клетках мозга в результате действия этанола указывают также работы, в которых показано, что она вызвана не только нарушениями доставки кислорода к клеткам мозга, но и, главным образом, изменениями микродинамики мозгового кровотока.

Таким образом, этанол, видимо, вызывает функциональную рассогласованность между метаболической потребностью мозговой ткани и кровоснабжением мозга, в результате чего удовлетворение метаболической по-

требности морфо-функциональных образований головного мозга затрудняется.

Известно, что в условиях дефицита снабжения кислородом мозговой ткани наблюдается единая системная реакция сосудов, функциональное поведение которых направлено на удовлетворение метаболических потребностей клеток мозга [9].

По нашему мнению, нарушение мозгового кровотока при алкогольной интоксикации различной тяжести связано с увеличением напряжения углекислоты в артериальной крови. Гиперкапния, в свою очередь, вызывает понижение тонуса мозговых сосудов и изменение кровоснабжения мозга.

Учитывая эти данные, в клинической практике всегда можно ожидать угнетающее действие этанола на дыхательный центр, что и приводит к резкому нарушению внутричерепной гемодинамики.

ЛИТЕРАТУРА

1. Анохина И. П., Панченко Л. Ф., Брусов О. С. В кн.: Алкоголизм, «Медицина», М., 1981, 52—56.
2. Ганнушкина Е. В., Шафранова В. П., Рясина Т. В. Функциональная ангиоархитектоника головного мозга, «Медицина», М., 1977, 94—103.
3. Голощанов О. А., Кривых С. К. Клин. мед., 59, 6, 13—15, 1981.
4. Каасик А. А. В кн.: Первый Всесоюзный съезд нейрохирургов, М., 1972, 62—68.
5. Мирзоян С. А. Фармакология и токсикология, 46, 4, 5—15, 1983.

6. Морозов Г. В. Иммунология нервных и психических заболеваний, «Медицина», М., 1983.
7. Москаленко Ю. В., Демченко И. Т., Кривченко А. И., Буров С. В., Дерий А. Н. Физиол. ж. СССР, 61, 1486—1492, 1975.
8. Мchedlishvili Г. И., Николашвили Л. С., Антия Р. В. Физиол. ж. СССР, 62, 104—114, 1976.
9. Орлов Р. С. В кн.: Вопросы физиологии и патологии кровообращения, Ставрополь, 1977, 81—83.
10. Савельев Ю. М., Динерштейн Л. В. Ж. невропатологии и психиатрии им. Корсакова, 2, 74—78, 1981.

სისხლის გაჭურვილი უმდგენილობის ცვლილებები სხვადასხვა ხარისხის ალკოჰოლური დათრობის დროს

ზ. ზურაბაშვილი, ნ. ბაკრაძე

საქართველოს სსრ ჯანმრთელობის დაცვის სამინისტროს მ. ასათიანის სახელობის ფსიქიატრიის ინსტიტუტი, თბილისი

რეზიუმე

დაკვირვება ჩატარებული იქნა ალკოჰოლიზმის პირველ, კონპენსირებულ სტადიაში მყოფ 40 ავადმყოფზე. სისხლში ეტანოლის კონცენტრაციის მიხედვით გა-

მოყოფილი იქნა დათრობის სამი ხარისხი: მსუბუქი, საშუალო და მძიმე. პარალელურად ექსპერიმენტის პირობებში (თეთრი თავები) შექმნილ იქნა ალკოჰოლური ინ-





ტოქსიკაციის მოდელი სისხლში ეტანოლის შესაბამისი კონცენტრაციით. გაზურ-სითხური ქრომატოგრაფიის მეთოდით განისაზღვრებოდა  $pO_2$ ,  $pCO_2$  და pH არტერიულ და ვენურ სისხლში. გამოკვლევებმა გვიჩვენეს, რომ ეტანოლის გავლენით იზრდება  $pCO_2$  არტერიულ და ვენურ სისხლში, ქვეითდება თავის ტვინთან მიტანილ სისხლში. მცირდება ქანგბადის უტილიზაცია ტვინის ქსოვილის მიერ, რას

გამოც არტერიო-ვენური სხვაობა  $pO_2$ -ს მაქსიმალური დაქვეითება და  $pCO_2$ -ს მატება ჩვეულებრივ აღინიშნება მსუბუქი ხარისხის დათრობის გამომწვევი ეტანოლის იმ დოზების შეყვანის 40—50 წუთის შემდეგ, მაშინ როდესაც საშუალო და ძლიერი დათრობის პირობებში აღნიშნული ძვრები ვითარდებოდნენ გაცილებით ადრე.

## ALTERATION OF GAS CONTENT IN THE BLOOD BY ALCOHOLIC INTOXICATION OF DIFFERENT DEGREES

Z. A. ZURABASHVILI, N. A. BAKURADZE

M. Asatiani Institute of Psychiatry, Georgian Ministry of Health, Tbilisi, USSR

### S u m m a r y

Under our observation were 40 patients with alcoholism in initial-compensating stage. According to concentration of ethanol in the blood, the patients were divided into three groups: light, medium and deep intoxication.

In acute experiments a model was made of alcoholic intoxication with the corresponding concentration of ethanol in the blood of rats. By the method of gas-fluid chromatography  $pO_2$ ,  $pCO_2$  and pH were determined in venous and arterial

blood. Our investigations have shown that ethanol raises the  $pCO_2$  tension in the arterial and venous blood. In accordance with the degree of intoxication, there is a significant increase of the disturbance. During light, middle and deep degrees of intoxication  $pO_2$  in blood flow to the brain reduces.

The oxygen consumption by brain tissue decreases resulting in a fall of the arterial-venous difference of  $pO_2$ .

УДК 612.821.3 : 615.849.19 : 616.248—053

ФИЗИОЛОГИЯ ЧЕЛОВЕКА И ЖИВОТНЫХ

## ВЛИЯНИЕ ЛАЗЕРОПУНКТУРЫ НА УСТОЙЧИВОСТЬ К ПСИХО-ЭМОЦИОНАЛЬНОЙ НАГРУЗКЕ У ДЕТЕЙ С БРОНХИАЛЬНОЙ АСТМОЙ

К. И. Пагава, И. Ф. Минеев, Т. О. Алашвили, Э. И. Гершкович

*Тбилисский государственный медицинский институт*

Поступила в редакцию 10.03.1987

На основании объективных показателей вариационной пульсометрии и фазовой структуры сердечного цикла, полученных в процессе решения сложной задачи «Распознавания и выбора» знаков типа колец Ландольта с использованием биотехнической системы медицинского назначения, установлено, что лазеропунктура оказывает седативное воздействие на детей с бронхиальной астмой и повышает их резистентность к психо-эмоциональной нагрузке.

В исследованиях последних лет отмечается увеличение количества больных бронхиальной астмой в детском возрасте и учащение случаев, плохо поддающихся лечению [2]. В возникновении и развитии заболевания в современных условиях, наряду с химизацией и загрязнением окружающей среды, большую роль играют также психические факторы [9]. Недостаточная эффективность медикаментозных средств лечения бронхиальной астмы у детей, необходимость длительного их применения, что нередко сопровождается побочным действием, аллергическими реакциями, тяжелыми осложнениями, ставят вопрос о более широком применении как физических методов лечения, так и психокорректирующей терапии. Перспективным в этом аспекте является

использование метода лазерной рефлексотерапии (ЛРТ) [4, 5, 10, 11]. Благоприятное действие лазеролечения отмечается у большинства детей с бронхиальной астмой и проявляется в улучшении общего состояния, снятии страха перед приступом, уменьшении мнительности, тревожности, улучшении сна. Наблюдается также тенденция к нормализации иммунологических показателей [7]. Особый интерес представляет изучение возможностей регулирования психофизиологического состояния человека методом ЛРТ [4, 5].

Задачей нашего исследования явилось изучение влияния лазеропунктурного воздействия на устойчивость к психо-эмоциональной нагрузке у детей с бронхиальной астмой.

### МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДИКА

Было исследовано 12 больных бронхиальной астмой в возрасте от 8 до 14 лет (5 девочек и 7 мальчиков). У всех больных диагностирована atopическая форма бронхиальной астмы. Длительность заболевания составляла от 2 до 8 лет. Больным проводилась ЛРТ в составе комплексного лечения. Для изучения влияния лазеро-

терапии на устойчивость к психо-эмоциональной нагрузке детей с бронхиальной астмой исследовали в межприступном периоде с проведением разового лазерного воздействия (монохроматическим когерентным красным светом) на парные биологически активные точки (БАТ) меридиана перикарда «Ней-гуань» и аурикуляр-



ные — «Шень-мень» (экспозиция соответственно 15 и 5 с).

Для проведения исследований с психо-эмоциональной нагрузкой использовалась биотехническая система медицинского назначения (БТС-М), созданная и функционирующая в отделе электрофизиологии ЦНИЛ ТГМИ. БТС-М ориентирована на изучение динамики показателей сердечно-сосудистой системы при психо-эмоциональных и физических нагрузках с оценкой качества выполнения задания [8].

Психоэмоциональная нагрузка заключалась в предъявлении испытуемому с 3-минутным перерывом двух серий знаков типа колец Ландольта с тремя, четырьмя и пятью разрывами, расположенными в случайном порядке.

Малое время экспозиции (35 мс) и быстрая смена кадров (1, 2 с) требовали постоянной концентрации внимания, а невозможность безошибочного выполнения задания усиливала напряжение, придавая ему эмоциональную окраску.

В фазе сравнительной нагрузки (СН), когда испытуемому предъявлялось 200 знаков только с нечетным числом разрывов, — изучалась реакция на решение простой сенсомоторной задачи. В фазе психо-эмоциональной нагрузки (ПН) изучалась реакция на сложную задачу «Распознавания и выбора». В этих фазах

определяли процент правильных, неправильных и количество пропущенных ответов, время реакции соответствующих ответов, по которым судили о качестве выполнения задания. С учетом возрастных особенностей испытуемых (8—14 лет) определяли показатели вариационной пульсометрии (моду, амплитуду моды, вариационный размах, индекс напряжения и др.) и фазовой структуры сердечного цикла (абсолютные значения фаз и периодов систолы левого желудочка и их производные) — всего свыше 30 величин. Для анализа медленных колебаний сердечного ритма, отражающих степень централизации процесса управления и активность подкорковых нервных центров, производилось выборочное построение вариационных пульсограмм [1]. В фазах покоя измерялись среднестатистическое, систолическое и диастолическое артериальное давление.

В первой серии исследования изучали воздействие лазерного облучения БАТ у детей с бронхиальной астмой на показатели вариационной пульсометрии, кардиохронометрии и гемодинамики в состоянии покоя. Во второй серии — для изучения влияния лазеропунктуры на устойчивость к психо-эмоциональной нагрузке — лазерное воздействие проводилось между двумя циклами исследований с психо-эмоциональной нагрузкой.

## РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

Исходное состояние испытуемых характеризовалось наличием некоторого эмоционального напряжения, связанного с предстоящим исследованием. Об этом свидетельствовали результаты общей оценки активности регуляторных систем. Интегральный показатель активности ритма сердца у пяти больных соответствовал состоянию функционального напряжения, т. е. мобилизации защитных механизмов, в том числе повышенной активности симпатoadренальной системы и системы гипофиз — надпочечники. У остальных отмечалось состояние оптимального напряжения систем регуляции, характерное для удовлетворительной адаптации к условиям среды. По данным фазового анализа сердечных сокращений, у 7 испытуе-

мых выявлен фазовый синдром гиподинамии миокарда I степени. Подобные фазовые сдвиги у больных с бронхиальной астмой отмечают многие авторы [6]. Они, по-видимому, связаны с недогрузкой желудочков кровью, вследствие увеличения внутригрудного давления и уменьшения притока крови к сердцу.

В первой серии наблюдений выявилось, что по сравнению с фоновым исследованием во время процедуры лазерного воздействия длительностью 40—60 с частота сердечных сокращений (ЧСС) и индекс напряжения (ИН) незначительно повышаются, а медленные колебания сердечного ритма на вариационной пульсограмме резко уменьшаются. После

лазеропунктуры ЧСС снизилась с  $86, \pm 1,5$  до  $76,3 \pm 3,1$  ( $P < 0,05$ ) а ИН — в среднем на 30%. Причем, чем больше была выражена симпатотония в исходном состоянии, тем более существенно было снижение ЧСС и ИН. Показатель активности ритма сердца снизился на 1—2 балла. В результате лазеропунктуры состояние функционального напряжения сохранилось только у одного больного, а у остальных отмечалась удовлетворительная адаптация с оптимальным напряжением системы регуляции. На вариационной пульсограмме отмечались медленные волны с периодом 20—30 с и 40—70 с большой мощности. Хотя причины, вызывающие недыхательные компоненты,

лось артериальное давление, уменьшились ударный и минутный объемы крови.

Во второй серии исследований, при изучении влияния лазеропунктуры на качество и режим работы детей с бронхиальной астмой, выявилось, что число ошибочных ответов уменьшилось почти на 15% (рис. 1а), а отсутствующих вдвое. Наряду с повышением продуктивности выполнения задания отмечалось некоторое удлинение времени сенсомоторной реакции в фазах СН и ПН (рис. 1б), что свидетельствует о повышении резистентности к психо-эмоциональной нагрузке [8].

Оценка активности регуляторных систем во время психо-эмоциональ-

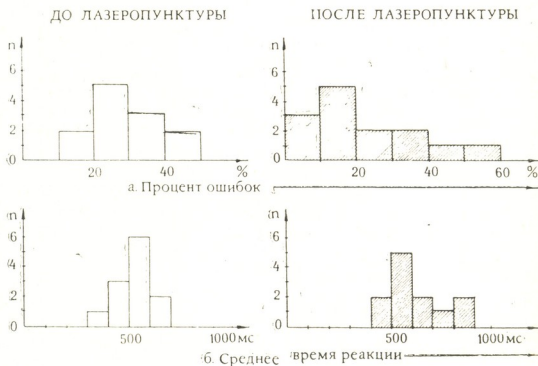


Рис. 1. Качество выполнения задания во время психо-эмоциональной нагрузки у детей с бронхиальной астмой (n — число испытуемых)

многообразны и до конца не выяснены, их оценка представляет большой интерес, так как в определенной степени отражает степень централизации управления ритмом сердца и активность подкорковых нервных центров.

В фазовой структуре сердечного цикла отмечалось удлинение фазы изометрического сокращения и уменьшение внутрисистолического показателя (ВСП). Незначительно снизи-

лись нагрузки по интегральному критерию — показатель активности регуляторных систем (ПАРС) — свидетельствует об улучшении функционального состояния детей с бронхиальной астмой после лазеропунктуры. Так, в первом цикле исследования в фазе ПН состояние функционального напряжения наблюдалось у семи испытуемых, перенапряжения — у трех, истощения — у двух, а во втором цикле, в фазе ПН, состояние функци-

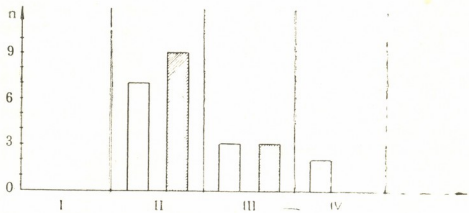


Рис. 2. Оценка общего состояния регуляторных механизмов по значению ПАРС в фазах ПН: I — состояние удовлетворительной адаптации, II — функционального напряжения, III — перенапряжения, IV — истощения регуляторных механизмов

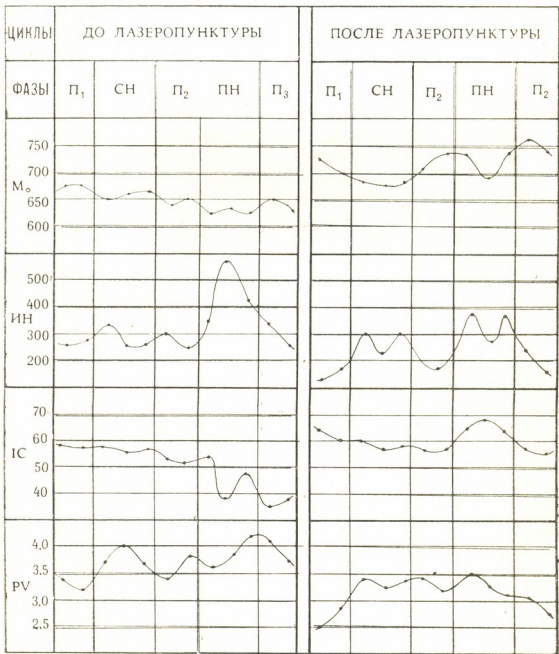


Рис. 3. Динамика ряда показателей вариационной пульсометрии, кардиохронометрии и гемодинамики во время циклов исследований с психо-эмоциональной нагрузкой до и после лазерного воздействия; П<sub>1</sub>, П<sub>2</sub>, П<sub>3</sub> — фазы покоя, СН — сравнительной нагрузки, ПН — психо-эмоциональной нагрузки; Mo — мода (в мс), ИН — индекс напряжения регуляторных систем, IC — фаза изометрического сокращения сердца (в мс), PV — ударный объем крови (в усл. ед.)



онального напряжения наступало у девяти испытуемых, перенапряжения — только у трех (рис. 2). Особенно менялась динамика индекса напряжения (рис. 3): если раньше в фазе ПН по сравнению с фазой СН он повышался примерно на 100%, то после лазеропунктуры — только на 15—30%. Сравнительно небольшая «цена» вегетативного обеспечения психо-эмоциональной нагрузки, наряду с повышением качества решения, говорит об улучшении психофизиологического состояния больных, снятии эмоционального напряжения в результате лазеропунктурного воздействия.

В фазах ПН на вариационной пульсограмме наблюдалось усиление медленных волн I и II порядка. Это говорит о централизации управления ритмом сердца. После лазеропунктуры в этой фазе медленные волны были менее выражены, что свидетельствует о меньшем напряжении центральных механизмов регуляции.

Динамика изменения фазовой структуры сердечного цикла у испытуемых не была однозначной, но степень выраженности синдрома гипо-

динами, ударный объем и артериальное давление после лазеропунктуры снижались.

Таким образом, лазерное облечение БАТ у детей с бронхиальной астмой оказало седативное влияние с понижением степени функционального напряжения, нормализацией вегетативного гомеостаза и снижением гемодинамических показателей. Оно улучшило качество выполнения задания в условиях острого дефицита времени, снизило «цену» вегетативной, энергетической и гемодинамической реакции на психо-эмоциональную нагрузку. Повышение устойчивости (резистентности) как к экстремальным, так и к психострессорным факторам происходит за счет понижения общей реактивности и сохранения резервных сил организма [1].

Анализ влияния разового лазеропунктурного воздействия на устойчивость к психоэмоциональной нагрузке позволяет заключить, что ЛРТ в комплексном лечении бронхиальной астмы в детском возрасте оказывает выраженный психокорректирующий эффект.

ЛИТЕРАТУРА

1. Баевский Р. М., Кириллов О. М., Клецкин С. Д. Математический анализ сердечного ритма при стрессе, «Наука», М., 1984.
2. Балаболкин И. И. Бронхиальная астма у детей, «Медицина», М., 1985.
3. Карпман В. Д. Фазовый анализ сердечного ритма, «Медицина», М., 1965.
4. Карпухина А. М. В сб.: Психофизиологическое состояние человека и информативность биологически активных точек кожи, Киев, 1979, 105—109.
5. Кружевая Т. Я. В сб.: Психофизиологическое состояние человека и информативность биологически активных точек кожи, Киев, 1979, 110—112.
6. Кубышкин В. Ф. Кардиодинамические фазовые синдромы, Здоров'я, Киев, 1982.
7. Мchedlishvili M. A., Пагава К. И., Гуладзе Р. Г. «Сабчота медицина», 3, 27—29, 1983.
8. Особенности реакции сердечно-сосудистой системы на психо-эмоциональную и физическую нагрузку при многофункциональном динамическом исследовании спортсменов (Отчет ЦНИЛ ТГМИ №ГР 0183.0070921), Тбилиси, 1985.
9. Пагава И. К., Пагава К. И. В сб.: Аллерготест-84 (Тбилиси). Pharmacia Diagnostics AB: Uppsala, Sweden, 1984, 133—136.
10. Bischo J. J. Acup. Electrother. Res., 5, 1, 29—40, 1980.
11. Bucek R. Dtsch. Zsch. Akup., 5, 106—110,



ლაზეროპუნქტურის ზეგავლენა ბრონქული ასთმით დაავადებულ ბავშვების გამძლეობაზე ფსიქომეოციური დატვირთვისადმი

ჟ. ფაღავა, ი. მინევი, თ. ალაშვილი, ე. გერშკოვიჩი

თბილისის სახელმწიფო სამედიცინო ინსტიტუტი

რ ე ზ ი უ მ ე

სამედიცინო დანიშნულების ბიოტექნიკურ სისტემაზე დაყრდნობით ჩატარებული ვარიაციული პულსომეტრიისა და გულის ციკლის ფაზური სტრუქტურის ანალიზის საფუძველზე დადგინდა, რომ ლა-

ზეროპუნქტურა ბრონქული ასთმით დაავადებულ ბავშვებზე ახდენს სედატიურ გავლენას და ზრდის მათ რეზისტენტობას ფსიქომეოციური დატვირთვისადმი.

LASERPUNCTURE INFLUENCE ON THE RESISTANCE TO PSYCHO-EMOTIONAL LOADING IN THE CHILDREN SUFFERING FROM BRONCHIAL ASTHMA

K. I. PHAGHAVA, I. F. MINEEV, T. O. ALASHVILI, E. I. GERSHKOVICH

Tbilisi State Medical Institute, USSR

S u m m a r y

The laserpuncture mechanism was studied in the children suffering from bronchial asthma. Using biotechnique medical system variation pulsometry values and cardiac cycle phase structure

were determined in resting phase and psychoemotional loading. It has been established that laserpuncture causes a sedative effect and increases the resistance to psychoemotional loading.

УДК 577.12.11.1

БИОХИМИЯ

## ЖИДКОКРИСТАЛЛИЧЕСКИЕ СТРУКТУРЫ — ЛИПОСОМЫ И ПРОТЕОЛИПОСОМЫ

Л. И. Андриадзе

*Институт кибернетики АН ГССР, Тбилиси*

Поступила в редакцию 14.11.1986

Молекулярная организация и функционирование мембран изучалось на искусственных жидкокристаллических структурах — липосомах и протеолипосомах. Проведены электронно-микроскопические исследования этих систем, мицеллярных структур ганглиозидов и рассмотрена возможность их использования для направленной модификации клеточных мембран.

В последние годы все очевиднее становится ключевая роль клеточных мембран в регуляции важнейших функций клетки. Молекулярная организация мембран и связи мембранных структур обеспечивают их биологическую полифункциональность. Мембраны обуславливают поддержание осмотического, концентрационного и электростатического градиентов, участвуют в транспорте веществ, процессах биосинтеза и превращения энергии, в генерации и распространении нервных импульсов, определяют барьерную функцию и устойчивость клетки к экстремальным воздействиям.

Мембраны являются матрицами для биологически важных молекул, которые играют ключевую роль в работе различных рецепторов — зрительных, обонятельных и др. С помощью мембран клетки не только распознают, принимают, но и перерабатывают сигналы. Анализ строения и функционирования мембран необходим для понимания и применения обнаружен-

ных в природе принципов создания искусственных сложных информационных систем.

Сложность строения и функционирования клеточных мембран затрудняет их изучение. Искусственные модельные мембраны, жидкокристаллические липидные структуры, образующиеся в воде, замкнутые везикулы — липосомы оказались весьма подходящей, упрощенной системой для изучения самых разных физико-химических свойств биологических мембран. В состав липидных везикул удалось ввести различные белки, получить протеолипосомы, что сделало липосомы еще более приближенной моделью клеточной мембраны.

Настоящая работа посвящена электронномикроскопическому изучению жидкокристаллических структур — липосом и протеолипосом, мицеллярных систем ганглиозидов и возможности использования их для создания комплекса клетка — искусственная мембрана.

### МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Липосомы получали из фосфатидилхолина, выделенного из яичного желтка. Для характеристики лецитина использовали метод адсорбционной тонкой хроматографии.  $R_f$  лецитина на закрепленном слое в системе растворителей хлороформ — метанол — вода (65:25:4) равен 0,36, а в системе хлороформ — метанол — аммиак — вода (50:60:1:8) — 0,39. Сус-



пензию фосфатидилхолина дезинтегрировали ультразвуком на приборе MSE-100 в течение 3—4 мин при охлаждении. Степень перекисного окисления фосфатидилхолина контролировали определением перекисного индекса по Клейну, т. е. отношения оптического поглощения при 233 и 215 нм.

Протеолипосомы получали путем совместной инкубации озвученных липосом с гликолитическим ферментом — альдолазой из мышц кролика (фирма «Reanal» Венгрия), определение активности которой проводили по ранее описанной методике [1, 2]. Смесь ганглиозидов получали из бычьего мозга методом Фольча, мо-

дифицированным Сузуки и Авровой [2, 3]. Анализ ганглиозидов и превентивное разделение на фракции проводили путем тонкослойной хроматографии на силикагеле Н. Мицеллы ганглиозидов получали озвучиванием водного раствора смеси ганглиозидов.

Остальные реактивы — отечественного производства квалификации х.ч. Исследуемый материал наносился на коллодиево-углеродные ионизированные пленки, контрастировался 2%-ным ФВК при pH 7,0 и исследовался в электронном микроскопе JEM-7A [1].

## РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

Значительная часть белков в клетках связана с мембранными структурами [1, 7]. Исследование взаимодействия липосом и протеолипосом с клетками, искусственных мембран с неорганическими ионами представляет значительный интерес, поскольку проливает свет на молекулярные механизмы агрегации и слияния мембран [4, 5, 11], изменение фазового состояния липидного бислоя [6, 12], проницаемость мембран [8, 10].

Клеточная мембрана гетерогенна, т. е. в целом жидкокристаллическая,

Благодаря гетерогенности и относительно высокой степени ненасыщенности жирнокислотных остатков из яичного фосфатидилхолина можно создать мембраны, находящиеся в жидкокристаллическом состоянии в широком диапазоне физиологических температур.

Нами были получены фосфатидилхолиновые жидкокристаллические структуры — липосомы в виде дискретных сферулитов величиной около 1000 Å, построенные из концентрических, частично образующих еди-

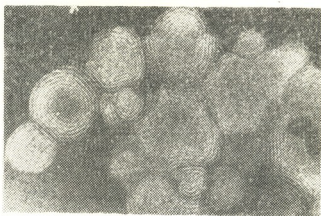


Рис. 1. Жидкокристаллические структуры — липосомы из яичного фосфатидилхолина,  $\times 20000$

она локально может быть «твердой» в силу латеральной сегрегации ее компонентов. Наличие интегральных белков также приводит к появлению более вязких липидных участков, состоящих из прочно связанных с белками липидных молекул.

ную систему мембранных слоев размером порядка 40 Å и периодически стью слоев около 70 Å (рис. 1).

Белок включали в липосомальную мембрану непосредственно путем совместной инкубации с заранее приготовленными липосомами — получали

протеолипосомы (рис. 2), которые укрупнились, дезинтегрировались и уплотнились. Ранее нами было показано, что белок-липидные взаимодействия в протеолипосомах носят сложный характер и зависят как от липидного состава, так и от физико-химического состояния и концентрации липида, связанного с ферментом. [1, 2, 3]. Исследование жидкокристаллических систем для нас представляет интерес с точки зрения возможности создания в дальнейшем комплекса клетка — искусственная мембрана.

Липиды при критической концентрации мицеллообразования (ККМ)

слоистые липидные везикулы сферической формы, состоящие из ряда концентрических ламелл. Каждая ламелла везикул представляет собой бимолекулярный слой, в котором липиды ориентированы по принципу «хвост к хвосту».

При определенных температурах в пределах этих структур происходят мезоформные (фазовые) переходы. Основной фазовый переход связан с переходом углеводородных цепей из состояния геля в состояние жидкого кристалла. Температура основного фазового перехода  $T_c$  зависит от природы полярных головок, длины и

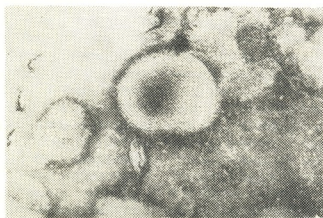


Рис. 2. Жидкокристаллические структуры — протеолипосомы из яичного фосфатидилхолина.  $\times 20000$

в воде самопроизвольно собираются в агрегаты, характеризующиеся способностью образовывать различные жидкокристаллические структуры (фазы) — кубические, гексагональные или ламеллярные — лиотропные мезофазы. Общий принцип построения всех липидных структур в воде состоит в том, что полярные головки находятся в воде, тогда как углеводородные цепи защищены от водной фазы экраном, состоящим из полярных головок. Липидные агрегаты, имеющие внутреннее водное пространство, представляют собой липосомы.

Состояние липидных агрегатов в воде зависит как от структуры их полярных головок и углеводородных цепей, так и от концентрации липида. Липиды с длинными цепями агрегируют с образованием макроскопических, коаксиальных цилиндрических структур. При осторожном встряхивании суспензии эти структуры разрываются и замыкаются, образуя много-

степенно ненасыщенности жирно-кислотных цепей. Изменения температуры могут привести к изменению геометрической организации бислоя (мезофазные переходы) и фазовым разделением бислоев, состоящих из смеси липидов в плоскости бислоев (латеральная сегрегация). Все эти виды фазовых превращений (переход от геля в жидкокристаллическое состояние, мезофазные переходы и латеральная сегрегация) сопровождаются изменениями теплосодержания системы.

Исследования дифракции рентгеновских лучей и нейтронов на фосфатидилхолиновых многослойных системах показали, что полярные головки ориентированы почти параллельно поверхности мембраны. Аналогичные выводы были сделаны на основании данных ЯМР, которые показали, что параллельная к поверхности мембраны ориентация полярных головок сохраняется как в состоянии геля, так

и жидкокристаллическом состоянии [4].

В дисперсиях многослойных липосом из фосфатидилхолина некоторая часть воды, не замерзающая при понижении температуры до 0°C, прочно связана с бислоями. Число прочно связанных молекул воды колеблется от 2,5 до 10 молекул на каждую молекулу фосфатидилхолина, а количество непрочно связанной воды в межбислойных зонах составляет от 10 до 20 молекул воды на каждую молекулу фосфатидилхолина. Увеличение подвижности воды при фазовом переходе липидов дает начало процессу обмена молекулами воды, не наблюдаемому когда липиды находятся в состоянии геля. Этот процесс отличается очень низкой энергией активации и, по-видимому, происходит меж-

Молекулярная организация ганглиозид — фосфолипидного монослоя зависит от присутствия двухвалентных катионов. При добавлении ионов кальция жесткость смешанного бислоя сначала резко возрастает, однако через некоторое время первоначальная жидкость восстанавливается.

Наши электронномикроскопические исследования системы ганглиозид—вода показали, что в отличие от яичного лецитина после озвучивания они состоят из однородных мицеллярных частиц размером 120 А (рис. 3). Многие гликолипиды, в частности ганглиозиды, можно ввести в клетку, не сшивая их с холестерином. Эти гликолипиды не образуют липосом, а находятся в водной среде в форме мицелл и мономеров. При этом молекулы ганглиозидов включаются в

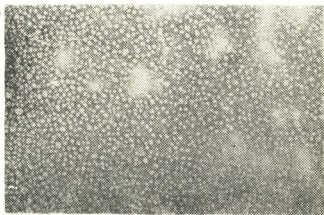


Рис. 3. Мицеллярная система ганглиозид — вода,  $\times 200\ 000$

ду различными популяциями менее прочно связанных молекул воды.

Когда в состав бислоя входят два или более различных липидов, наблюдаемая температура фазового перехода зависит от их взаимной растворимости.

В мультислойных системах холестерин может оказывать либо «разжижающее», либо «конденсирующее» влияние в зависимости от того, находятся ли фосфолипиды в состоянии геля или жидкого кристалла [9]. Холестерин выступает своеобразным регулятором жидкости бислоя, предотвращающим застывание углеводородных цепей ниже температуры фазового перехода и ограничивающим подвижность цепей выше этой температуры.

Для некоторых типов ганглиозидов включение в клеточные мембраны происходит более интенсивно, именно когда гликолипиды находятся в составе мицелл, а не липосом. Инкубацией с ганглиозидными мицеллами также удается модифицировать клеточную мембрану.

Липосомы могут использоваться для изучения роли холестерина в функционировании плазматических мембран, в частности в поддержании ее микровязкости. Они являются физиологическими модуляторами, способными приносить и уносить холестерин клеточных мембран, поскольку он сходен с переносом холестерина между клеточными мембранами.

Взаимодействие белков с липидами бислоев приводит к изменению его

параметров и может оказывать сильное влияние на подвижность липидных молекул. Различают три способа взаимодействия молекул белка с липидным бислоем: 1) взаимодействие с полярными головками липидов без нарушения упаковки неполярных цепей; 2) адсорбция на поверхности бислоя, сопровождающаяся изменением упаковки углеводородных цепей липидных молекул и 3) проникновение на ту или иную глубину бислоя. Эти различные комбинации могут реализоваться при контакте бислоя с различными белками [4].

Адсорбция белка на поверхности бислоя может быть обусловлена как электростатическим взаимодействием, так и специфическим связыванием посредством водородных связей. В зависимости от природы белка такая адсорбция может сопровождаться изменением жидкостного состояния липидов, а также разделением фаз.

Для липосом одного и того же размера проницаемость в отношении неорганических катионов увеличивается с увеличением степени ненасыщенности фосфолипидов. Проницаемость для липосом ионов кальция резко возрастает в области фазового перехода фосфолипидов. Большие одно- и мультимеллярные липосомы с жидкокристаллической мембраной могут связываться с клеточной поверхностью.

С помощью «жидких» липосом в клеточную мембрану можно вводить новые липиды и модифицировать ее функции; при взаимодействии с клеткой они могут удалять белки или внедрять новые и этим самым модифицировать ее мембрану. После обработки клеток «жидкими» липосомами изменяется даже их морфология. Например, количество микроворсинок на поверхности клеток значительно увеличивается. Многие авторы полагают, что микроворсинки определяют важные черты поведения опухолевых клеток [4]. Жидкокристаллические

липосомы, связываясь с клеточной поверхностью, частично разрушаются, выпуская свое содержимое наружу. Значительная часть липидов «жидких» липосом остается связанной с клеточной поверхностью. Предполагают, что у клеточной поверхности имеются определенные участки для связывания с липосомами. Распределение этих липосомо-связывающих участков и их возможное физиологическое значение пока остается неизвестным.

Жидкокристаллическое состояние липосомальных липидов способствует эндоцитозу. При инкубации клеток с жидкокристаллическими липосомами происходит переход липидных и белковых компонентов мембран на липосомы, а липосомальные липиды встраиваются в клеточную мембрану. Введением в липосомальную мембрану различных веществ, обычно белков, удается увеличить эффективность взаимодействия протеолипосом с клетками. При этом используют либо вещества, способствующие связыванию липосом с клеточной поверхностью, либо молекулы, избирательно стимулирующие один из путей поглощения липосом клеткой — эндоцитоз или слияние.

Перспективность липосом и протеолипосом как моделей клеточных мембран неоспорима. Эти же жидкокристаллические структуры могут использоваться и как инструмент для изучения клеток и воздействия на них. Обмен и перенос мембранных компонентов между адсорбированными на поверхности клетки липосомами и клеточными мембранами позволяют изменять состав последней. Итак, создание и исследование различных липосом и протеолипосом, изучение взаимодействия этих жидкокристаллических структур с клеточной мембраной даст в дальнейшем возможность направленно модифицировать нативные мембраны, управлять ими.

## ЛИТЕРАТУРА

1. Андриадзе Л. И., Штейн-Марголина В. А., Серебровская К. Б., Опарин А. И. Журнал эвол. биох. и физиол., XI, 4, 333—339, 1975.
2. Андриадзе Л. И. Изв. АН СССР, сер. биол., 6, 4, 299—305, 1980.
3. Андриадзе Л. И. В сб.: Липосомы и их взаимодействие с клетками и тканями, «Наука», М., 143—152, 1981.
4. Марголис Л. Б., Бергельсон Л. Д. Липосомы и их взаимодействие с клетками, «Наука», М., 1986.



5. Маркин В. С., Козлов М. М. Биофизика, 28, 6, 1031—1035, 1983.  
 6. Маркин В. С., Козлов М. М. Биофизика, 29, 2, 241—245, 1984.  
 7. Хочачка П., Сомерс Дж. Стратегия биохимической адаптации, М., «Мир», 1977.  
 8. Bell J. E., Miller C. Biophys. J., 45, 279—284, 1984.  
 9. Dresdner [G. J. Membrane Biol., 64, 145—153, 1982.  
 10. Fox J., Ciani S. J. Membrane Biol., 84, 9—13, 1985.  
 11. Yoshimura T., Aki K. Biochem. Biophys. Acta, 813, 167—172, 1985.  
 12. Trauble H., Hansjörg E. Proc. Nat. Acad. Sci., USA, 71, 214—218, 1974.

თხევადკრისტალური სისტემები — ლიპოსომები და პროტეოლიპოსომები

ლ. ანდრიადე

საქართველოს სსრ მეცნიერებათა აკადემიის კიბერნეტიკის ინსტიტუტი, თბილისი

რ ე ზ ი უ მ ე

შესწავლილია ხელოვნური მემბრანების ლიპოსომების, პროტეოლიპოსომების და განვლილი დროების მიცელარული სტრუქტურების აგებულება, მოლეკულური ორ-

განიზაცია და ფუნქციონირება. ნაჩვენებია, რომ აღნიშნული სისტემები შესაძლებელია გამოყენებული იყოს ნატიური მემბრანების მოდიფიცირებისათვის.

LIQUID CRYSTAL SYSTEMS—LIPOSOMES AND PROTEOLIPOSOMES

L. I. ANDRIADZE

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

S u m m a r y

Molecular structure and functioning of membranes were studied on artificial liquid crystal systems—liposomes and proteoliposomes. These systems and micellar structures of gangliosides were stu-

died with electron microscope. The possibility of their application for directed modification of cellular membranes was considered.

УДК 577.153.35

БИОХИМИЯ

## К ВОПРОСУ О ФУНКЦИОНАЛЬНОЙ ЗНАЧИМОСТИ ДЕЙСТВИЯ НЕЙРОТРАНСМИТТЕРОВ НА Na, K-АТФазную СИСТЕМУ

Л. Г. Цакадзе, З. П. Кометиани

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

Поступила в редакцию 11.07.1986

Na, K-АТФаза фракции синаптических мембран, полученная из мозга крыс, находящихся в «обогащенной среде» (группа А) и в «социальной изоляции» (группа В) имеет различную чувствительность к нейротрансмиттерам (НТ). Серотонин (5-ГТ), норадреналин (НА), дофамин (ДА),  $\gamma$ -аминомасляная кислота — ГАМК (недостаточно ацетилхолин — АХ) вызывают более глубокое уменьшение Na, K-АТФазной активности группы А, чем группы В. Высказано предположение, что тормозящее действие НТ на Na, K-АТФазу нервных окончаний связано с уровнем интегральной деятельности мозга.

Ранее нами было показано, что НТ регулируют Na, K-АТФазную активность фракции синаптических мембран [1, 2, 4]. Эффект носит избирательный, специфический и универсальный характер. Однако вопрос о функциональной значимости эффекта остается открытым. Его изучение в онтогенезе показало, что в зрелом возрасте способность НТ активировать Na, K-АТФазу резко уменьшается, а тормозящая способность увеличивается и стабилизируется. Возникло предположение, что тормозя-

щая способность, возможно, связана с интегральной деятельностью мозга. Данная работа посвящена сравнительно эффекту НТ на Na, K-АТФазную систему нервных окончаний двух групп крыс, находящихся в «социальной изоляции» и в «обогащенной среде». Предпосылкой этого служит предположение, что различный уровень интегральной деятельности мозга может дать различную картину действия НТ на Na, K-АТФазную систему.

### МЕТОДИКА

Объектом исследования служила субклеточная фракция синаптических мембран, полученная по ранее описанной методике [2]. Фракцию синаптических мембран получали из головного мозга двух основных групп крыс. 20-дневные крысы одного помета разделялись на две группы. Первая находилась в условиях «обогащенной среды». Крысы помещались в просторную, хорошо освещенную дневным светом камеру. В камере были вмонтированы «игрушки» раз-

личного вида (лестницы, качели, мостики и т. д.). Каждую неделю в камеру вносили разноцветные предметы, в основном металлические и деревянные (на рисунках и в тексте группа «обогащенной среды» обозначена индексом А). Вторую группу представляли крысы, которые были полностью изолированы друг от друга и находились в условиях резкого ограничения доступа к зрительным и слуховым раздражителям (на рисунках и в тексте эта группа «социальной



изоляции» обозначена индексом В). Трис, рН-7,85. Для выявления  $Na, K$ -АТФазной активности использовалось добавление 0,2 мМ оубаина в реакционную среду, в которой отсутствовали ионы натрия и калия.  $Na, K$ -АТФазная активность в отсутствие НТ принята за 100%. Соответственно при воздействии НТ на  $Na, K$ -АТФазу активность выражена в %. Среднюю квадратичную ошибку рассчитывали по формуле

$$\sigma(\%) = \frac{100}{v_0} \sqrt{\sigma_1^2 + \left(\sigma_0 \frac{v_i}{v_0}\right)^2},$$

где  $V_0$  и  $\delta_0$  — активность и ее ошибка в отсутствие НТ, а  $v_i$  и  $\sigma_1$  — при добавлении в реакционную среду НТ определенной концентрации.

$Na, K$ -АТФазную активность препаратов определяли в идентичных условиях по ранее описанной методике [2, 3]. Суммарная АТФазная активность определялась в реакционной среде: 3 мМ АТФ, 3 мМ  $MgCl_2$ , 126 мМ  $NaCl$ , 20 мМ  $KCl$ , 40 мМ

Все данные обработаны статистически с использованием законов распределения средних ошибок косвенных измерений в методе малых выборок. Было использовано распределение Фишера и Стьюдента.

## РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

Крысы, выращенные в различной среде («обогащенная среда» и «социально-изолированная среда»), имеют значительные сдвиги физиологического и биохимического характера. Наблюдается изменение как общего веса, так и отдельных мозговых структур [7]; ярко выражено различие в некоторых условно-рефлекторных поведенческих функциях [3], в интеграции везикулярных образований [6], в распределении глии и ацетилхолинэстеразной активности [5, 7] и др.

$Na, K$ -АТФазная активность различных препаратов субклеточных фракций синаптических мембран варьирует в широком диапазоне. Так например, для трех препаратов группы А взвешенная средняя  $Na, K$ -АТФазная активность равнялась  $48,1 \pm 7,1$  [3]  $\mu\text{кмоль Р/мг б.ч.}$ , а для группы В —  $40,1 \pm 9,0(3)$   $\mu\text{кмоль Р/ч мг белка}$ . Следовательно, препараты синаптических мембран, полученные из мозга крыс групп А и В, не отличаются достоверно по удельной  $Na, K$ -АТФазной активности. Поэтому действие НТ оценивали в %, принимая за 100%  $Na, K$ -АТФазную активность в отсутствие НТ в реакционной среде. После этого полученные резуль-

таты объединяли методом взвешивания, учитывая индивидуальную ошибку измерения.

Целью исследования был поиск возможного изменения (качественного или количественного) эффекта НТ на  $Na, K$ -АТФазу синаптических мембран, полученных из головного мозга крыс групп А и В.

Для полного выявления качественного и количественного характера действия НТ на  $Na, K$ -АТФазную активность были выбраны три концентрации НТ на основе ранее проведенных работ [2]. Было изучено влияние следующих НТ: 5-ГТ, НА, ДА, АХ и ГАМК. Для выявления ЭГТА-зависимости эффекта НТ на  $Na, K$ -АТФазную активность все эксперименты производились в отсутствие и при наличии 0,4 мМ ЭГТА в реакционной среде. При этом были установлены общие закономерности действия ЭГТА (прерывистые кривые на рис. 1-5). Во-первых, ЭГТА резко уменьшает глубину действия всех НТ на  $Na, K$ -АТФазную активность. Во-вторых, не наблюдается достоверное различие в чувствительности  $Na, K$ -АТФазной активности к НТ между группами А и В.

На рис. 1 (сплошные линии) пока-

зано влияние 5-ГТ на Na, К-АТФазную активность в отсутствие ЭГТА. Между группами А и В наблюдается четкое различие по глубине воздействия 5-ГТ. При этом достоверность

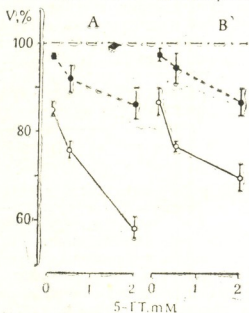


Рис. 1. Сравнение действия различных концентраций (мМ) 5-ГТ на Na, К-АТФазную активность (%) субклеточной фракции синаптических мембран группы А и В. Сплошные линии — эффект в отсутствие ЭГТА; прерывистые — при добавлении 0,4 мМ ЭГТА

различия возрастает при увеличении концентрации 5-ГТ. Качественная картина эффекта характеризуется отсутствием активации при малых концен-

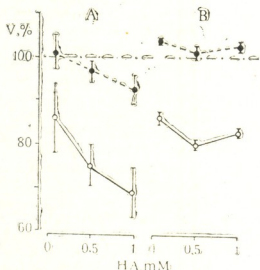


Рис. 2. Сравнение действия различных концентраций (мМ) НА на Na, К-АТФазную активность (%) субклеточной фракции синаптических мембран групп А и В. Сплошные линии — эффект в отсутствие ЭГТА, прерывистые — при добавлении 0,4 мМ ЭГТА

трациях 5-ГТ, что вообще характеризует зрелый мозг. Аналогичную ситуацию мы имеем при изучении влия-

ния НА на Na, К-АТФазу (рис. 2, сплошные линии). Здесь, так же как и в первом случае, Na, К-АТФаза синаптических мембран, полученная из мозга крыс, находящихся в обогащенной среде, подвергается более глубокому воздействию НА, чем Na, К-АТФаза, полученная из мозга крыс, находящихся в социальной изоляции. Статистическая обработка данных показала, что в обоих случаях различие характеризуется высокой степенью достоверности. Так например, для высоких концентраций НА уровень значимости различия  $P > 0,01$ .

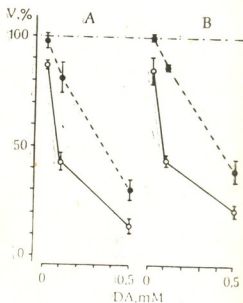


Рис. 3. Сравнение действия различных концентраций (мМ) ДА на Na, К-АТФазную активность (%) субклеточной фракции синаптических мембран групп А и В; сплошные линии — эффект в отсутствие ЭГТА, прерывистые — при добавлении 0,4 мМ ЭГТА

Анализ действия ДА и ГАМК на Na, К-АТФазу синаптических мембран в отсутствие ЭГТА также показал, что между группами А и В существует различие. Достоверность (рис. 3 и 4; сплошные линии) характеризуется для отдельных точек меньшим уровнем значимости ( $P > 0,1$ ). Однако рассмотрение общей картины воздействия ДА и ГАМК дает нам право заключить, что наблюдается четкое различие между группами А и В.

В отличие от других НТ анализ действия АХ на Na, К-АТФазную активность показал, что по отдельным точкам не наблюдается достоверное





различие между группами А и В. Однако следует подчеркнуть, что по характеру зависимости Na, К-АТФазной активности от концентрации АХ группы А и В существенно отличаются (рис. 5, сплошные линии).

Суммируя все вышеописанные эксперименты, мы можем заключить, что в отсутствие ЭГТА в реакционной среде между группами А и В наблюдается четкое различие по глубине действия на Na, К-АТФазу нервных окончаний. Это различие невоз-

вационный или тормозной характер в зависимости от концентрации НТ. Эффект хорошо разграничивается качественно с помощью ЭГТА. Недавние эксперименты показали, что в процессе развития способность НТ регулировать Na, К-АТФазу мембран синаптического происхождения качественно изменяется. У молодых крыс наблюдается ярко выраженная активационная фаза ЭГТА-зависимого действия, а у зрелых животных бо-

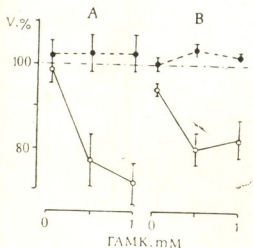


Рис. 4. Сравнение действия различных концентраций (мМ) ГАМК на Na, К-АТФазную активность (%) субклеточных фракций синаптических мембран групп А и В. Сплошные линии—эффект в отсутствие ЭГТА, прерывистые — в присутствии 0,4 мМ ЭГТА

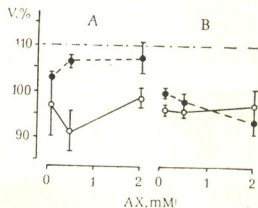


Рис. 5. Сравнение действия различных концентраций (мМ) АХ на Na, К-АТФазную активность (%) субклеточных фракций синаптических мембран групп А и В. Сплошные линии—эффект в отсутствие ЭГТА, прерывистые — при добавлении 0,4 мМ ЭГТА

можно объяснить вариациями, которые наблюдаются между препаратами из различных групп крыс, находящихся в одинаковых условиях, а также вариациями, связанными с приготовлением субклеточной фракции синаптических мембран после их осмотического шока. Учитывая эти глубокие сдвиги и достоверные различия, которые дают «обогащенная среда» и «социально-изолированная среда» [5—7], можно говорить об изменении регуляторных механизмов активного транспорта в зависимости от различного уровня интеграции деятельности мозга. В связи с этим встает вопрос об отсутствии качественного различия эффекта в двух сравниваемых группах (А и В). Как было показано ранее [2, 4], эффект НТ на Na, К-АТФазную активность имеет акти-

более выражена тормозная фаза. Настоящая работа проведена на животных, которые более схожи со второй группой, т. е. превалирует тормозной эффект. Следовательно, в обоих случаях (А и В) мы наблюдаем только ингибирующее воздействие НТ на Na, К-АТФазу.

В заключение нужно отметить, что возможность изменения регуляции активного транспорта от НТ в зависимости от разного состояния мозговой деятельности имеет огромное функциональное значение и требует дальнейших исследований для получения новых, более веских доказательств.

1. Кометиани З. П., Джариашвили Т. Я., Цакадзе Л. Г. Биохимия, 40, 1046—1052, 1975.
2. Ксметиани З. П., Джариашвили Т. Я. Изв. АН ГССР, сер. биол., 1, 190—196, 1975.
3. Bures J., Buresova O., Huston J. Techniques and basic experiments for the study of brain and behaviour, 1976, Elsevier Scientific Publishing Company, Amsterdam, New York, Oxford.
4. Kometiani Z., Tsakadze L., Jariashvili T. J. Neurochem., 42, 5, 1246—1250, 1984.
5. Krech D., Rosenzweig M. R., Bennett E. Arch. of Neurol., 8, 403—412, 1963.
6. Diamind M. C., Krech D., Rosenzweig M. R. J. Comp. Neurol., 123, 111—119, 1964.
7. Rosenzweig M. R., Bennett E. B. Brain Res., 14, 427—445, 1969.

ნეიროტრანსმიტერების Na, K-ატფაზურ სისტემაზე მოქმედების ფუნქციური მნიშვნელობის საკითხის შესახებ

ლ. წაკაძე, ზ. კომეთიანი

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

რ ე ზ ი უ მ ე

«გამდიდრებულ გარემოში» («А» ჯგუფი) და «სოციალურ იზოლაციაში» («В» ჯგუფი) მყოფი ვირთაგვების თავის ტვინიდან მიღებული სინაფსური მემბრანების Na, K-ატფაზა ხასიათდება განსხვავებული მგრძობელობით ნეიროტრანსმიტერების მიმართ. სეროტონინი, ნორადრენალინი, დოფამინი, გამა-ამინოერბომჟავა (არასარ-

წმუნოდ აცეტილქოლინი) იწვევენ ატფაზური აქტიობის უფრო ღრმა შემცირებას «А» ჯგუფში, ვიდრე «В»-ში. გამოთქმულია მოსაზრება, რომ ნეიროტრანსმიტერებით ნერვული დაბლოების Na, K-ატფაზური აქტიობის შემაკავებელი მოქმედება დაკავშირებულია თავის ტვინის ინტეგრაციული მოქმედების დონესთან.

## ON THE QUESTION OF FUNCTIONAL SIGNIFICANCE OF NEURO-TRANSMITTERS EFFECT ON Na, K-ATPase SYSTEM

L. G. TSAKADZE, Z. P. KOMETIANI

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

### S u m m a r y

Na, K-ATPase of brain synaptic membranes, obtained from two groups of rats, "Environmental complexity and training" group (A) and "Isolated control" group (B), has different sensibility to neurotransmitters. Serotonin, noradrenaline, dopamine, GABA (and acetylcholine,

unreliably), cause more pronounced inhibition of Na, K-ATPase from group A, than from group B. It is proposed that the inhibitory action of neurotransmitters on Na, K-ATPase depends on the level of integrative activity of the brain.

УДК 615.015:21:22

ФАРМАКОЛОГИЯ

## МЕХАНИЗМ ФАРМАКОЛОГИЧЕСКОГО ДЕЙСТВИЯ КАРДИОТРОПНЫХ СРЕДСТВ НА СИСТЕМУ КОНТРАКТИЛЬНЫХ БЕЛКОВ МИОКАРДА

Г. С. Турманаули, Е. В. Яровая, Н. В. Карсанов

*Тбилисский государственный медицинский институт  
Республиканский научно-исследовательский центр медицинской биофизики  
МЗ ГССР, Тбилиси*

Поступила в редакцию 15.07.1986

В эксперименте на пучках глицеринизированных и скинированных волокон миокарда было показано, что дигоксин и индерал изменяют сократительную способность миофибрилл, действуя на систему контрактильных белков миокарда (дигоксин). Комбинированное применение дигоксина и индерала дает фармакологический синергизм с потенцированием, который проявляется в усилении сокращения пучков глицеринизированных и скинированных волокон миокарда путем непосредственного действия сердечных гликозидов и бета-блокатора на саркоплазматической ретикулум и систему контрактильных белков миокарда.

В современной кардиофармакологии перспективным направлением является изучение механизмов действия кардиотропных средств на клеточном уровне. В настоящее время интенсивно изучаются патобioхимические процессы, происходящие в тех структурах клетки, в которых происходят ионо-ферментные, энергетические и другие метаболические процессы [1—3, 7—16].

Разработка вопросов фармакологического воздействия на уровне субклеточных структур миокарда является одной из актуальных проблем современной науки, в частности цитофармакологии. Исследования такого уровня являются наиболее информативными и дают более точные представления о внутриклеточном механизме действия лекарств.

В настоящее время еще не установлены точки приложения (фармакологический механизм действия) сердеч-

ных гликозидов и бета-блокаторов на уровне субклеточных структур [9, 14, 18, 20—22].

В литературе приводятся данные о том, что бета-блокатор индерал в сравнительно высоких дозах увеличивает сокращение пучков глицеринизированных волокон миокарда (ПГВМ), а в низких — уменьшает [5, 17].

Спорной остается проблема фармакопрофилактики существенных побочных эффектов бета-блокаторов при лечении ишемической болезни сердца, а также вопрос применения бета-блокаторов совместно с гликозидами [6, 18].

Целью данной работы является изучение фармакологического действия дигоксина, бета-ацетилдигоксина и индерала, как отдельно, так и при комбинированном применении, на сократительные свойства пучков глицеринизированных и скинированных волокон миокарда собак в норме.

### МЕТОД ИССЛЕДОВАНИЯ

Работа проведена на пучках волокон миокарда, глицеринизированных 2,24 ч и в течение одного месяца, а также на скинированных волокнах миокарда.

Для получения глицеринизированных волокон трабекулы из левого желудочка сердца (предварительно привязанные по концам к спичечным стержням) глицеринизировались в

50%-ном водном растворе глицерина в продолжении 2 и 24 ч, а также одного месяца [10, 26].

Скинированные волокна миокарда получали из левого желудочка сердца нормальных собак по методу, описанному в работе [19].

Исследовано действие сердечного гликозида дигоксина и бета-блокатора индерала (обзидана), а также комбинации дигоксина с индералом и, для сравнения, бета-ацетилдигоксина с индералом.

Сокращение ПГВМ изучалось в среде, содержащей 0,02 М трис-НСI буфера (рН 8,2), 0,05 М КСI и 0,005 М MgCl<sub>2</sub>.

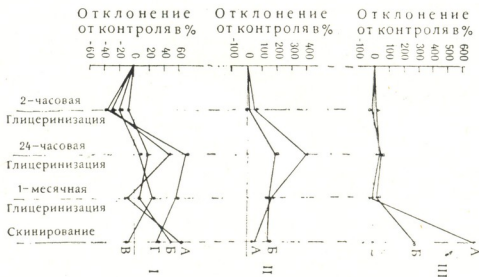
Сокращение скинированных волокон миокарда изучалось в среде, содержащей 25 мМ имидазола (рН 7,4), 0,1 М КСI, 2 мМ MgCl<sub>2</sub>, 0,5 мМ PMSF, 5 мМ NaN<sub>3</sub>, 2 мМ ДТТ (дитиотрейтол).

Сокращение инициировалось внесением в среду раствора АТФ, из расчета создания конечной концентрации, равной  $5 \times 10^{-3}$  М. Величина напряжения, развиваемого глицеринизированными и скинированными волокнами в аукстоническом режиме, измерялась тензометрически [11].

## РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

Результаты проведенных опытов показали, что при 2-часовой глицеринизации дигоксин в сравнительно больших дозах ( $10^{-5}$  М) ингибирует сокращение ПГВМ. Уменьшение до-

Комбинированное применение индерала с дигоксином (аа  $10^{-5}$  М) вызывает достоверное мощное увеличение (на 52%) сократительной способности ПГВМ ( $P < 0,01$ ). Комбинация



Напряжения, развиваемое пучками глицеринизированных и скинированных волокон миокарда под влиянием дигоксина и индерала (I): А — дигоксин  $10^{-5}$  М; Б — дигоксин  $10^{-6}$  М; В — обзидан  $10^{-6}$  М; Г — обзидан  $10^{-7}$  М; II — комбинации дигоксина и индерала и бета-ацетилдигоксина и индерала: А — дигоксин  $10^{-6}$  М + индерал  $10^{-6}$  М; Б — бета-ацетилдигоксин  $10^{-6}$  М + индерал  $10^{-6}$  М; III — под влиянием комбинации дигоксина и индерала, а также бета-ацетилдигоксина и индерала в среде с 4 мМ ЭГТА: А — дигоксин  $10^{-6}$  М + индерал  $10^{-6}$  М; Б — бета-ацетилдигоксин  $10^{-6}$  М + индерал  $10^{-6}$  М

зы дигоксина на один порядок вызывает сокращение, близкое к контрольной величине. Индерал в дозе  $10^{-5}$  М уменьшает сократительную способность ПГВМ на 21%, а в дозе  $10^{-7}$  М на 35% (рис. 1).

же индерала с бета-ацетилдигоксином в тех же дозах так же имеет тенденцию к увеличению сократительной способности ПГВМ, но в меньшей степени — на 13% (рис. 2). Следует отметить, что внесение в среду со-

крашения 4 мМ ЭГТА не оказывает влияния на действие комбинации индерала с дигоксином (сократительная способность ПГВМ имеет тенденцию к увеличению). Замена в комбинации дигоксина на бета-ацетилдигоксин вызывает сокращение, равное контрольной величине (рис. 3).

При 24-часовой глицеринизации ингибирующее действие дигоксина на сокращение ПГВМ снимается. В дозе  $10^{-5}$  М имеется тенденция к увеличению сократительной способности ПГВМ на 48%, а в дозе  $10^{-3}$  М на 21% (рис. 1). Иnderал в дозе  $10^{-5}$  М не влияет на сокращение ПГВМ, уменьшение же дозы препарата на один порядок вызывает достоверное увеличение сократительной способности ПГВМ на 73% —  $P < 0,02$  (рис. 1).

Комбинированное применение индерала с дигоксином и индерала с бета-ацетилдигоксином (аа  $10^{-3}$  М) вызывает мощное (на 43 и 199%) достоверное ( $P < 0,02$  и  $P < 0,01$  соответственно) увеличение сократительной способности ПГВМ (рис. 2). Внесение в среду сокращения 4 мМ ЭГТА не снимает эффекта указанных комбинаций, но увеличение сократительного ответа выражено не столь мощно (на 43 и на 59%; рис. 3).

При месячном сроке глицеринизации дигоксин как в дозе  $10^{-5}$  М, так и в дозе  $10^{-3}$  М не влияет на сократительную способность ПГВМ. Под действием же индерала сократительная способность ПГВМ достоверно увеличивается: в дозе  $10^{-3}$  М на 24%, в дозе  $10^{-7}$  М на 56%;  $P < 0,05$  и  $P < 0,01$  соответственно (рис. 1).

Комбинация индерала с дигоксином (аа  $10^{-3}$  М), так же как и индерала с бета-ацетилдигоксином, вызывает достоверное увеличение сократительного ответа ПГВМ на 166 и 164%;  $P < 0,02$  и  $P < 0,05$  соответственно (рис. 2).

Если же в среду сокращения добавить 4 мМ ЭГТА для хелатирования свободного кальция, то действие комбинации индерала с дигоксином не вызывает увеличения сократительной способности ПГВМ, комбинация же индерала с бета-ацетилдигоксином имеет тенденцию к увеличению сократительного ответа ПГВМ (рис. 3).

При изучении напряжения, развиваемого скинированными волокнами

миокарда, было показано, что дигоксин в дозе  $10^{-3}$  М имеет тенденцию к увеличению сократительной способности волокон, тогда как в дозе  $10^{-5}$  М вызывает достоверное увеличение сократительной способности на 53% ( $P < 0,01$ ). Обзидан в дозе  $10^{-3}$  М не влияет на сократительную способность скинированных волокон, тогда как в дозе  $10^{-7}$  М уже наблюдается тенденция к увеличению сократительной способности (рис. 1).

Применение комбинации вышеуказанных препаратов (аа  $10^{-3}$  М) вызывает достоверное увеличение сократительной способности скинированных волокон миокарда, причем комбинация индерала с дигоксином вызывает увеличение ( $P < 0,05$  и  $P < 0,001$ ) сократительной способности на 49%, а комбинация индерала с бета-ацетилдигоксином — на 139% (рис. 2).

Внесение в среду сокращения 4 мМ ЭГТА не снимает стимулирующего эффекта комбинаций указанных препаратов (рис. 3).

Таким образом, сердечный гликозид дигоксин и бета-блокатор индерал при 2-часовой глицеринизации миокардиальных волокон, когда саркоплазматический ретикулум сохраняет способность аккумулировать кальций [24, 25], а сарколемма разрушается настолько, что через нее могут проходить не только ионы, но и более крупные молекулы [13, 23], не вызывают усиления сократительной способности ПГВМ.

Комбинированное применение индерала с дигоксином при 2-часовой глицеринизации дает выраженный сократительный эффект, а при 24-часовой глицеринизации комбинация индерала с дигоксином дает резко выраженный, не аддитивный, а потенцированный прямой фармакологический синергизм, который проявляется в виде усиления сократительной способности ПГВМ. Указанный синергизм с потенцированием, вероятно, обусловлен высвобождением ионов кальция из саркоплазматического ретикулума кардиомиоцита и увеличением содержания кальция в цитоплазме, что способствует взаимодействию миозина с актином и вызывает сильное сокращение ПГВМ.

Данные об изменении сокращения ПГВМ под влиянием отдельных лекарственных препаратов приводят и



другие авторы. Так, Квачадзе и др. [12] показали, что строфантин увеличивает сокращение ПГВМ путем воздействия на систему сократительных белков, аналогичные данные приведены и при сердечной недостаточности и гипертрофии сердца [4].

По некоторым данным [5] индерал в малых дозах уменьшает сокращение ПГВМ, а в высоких — увеличивает на 28% [17].

В кальциевой среде в условиях месячной глицеринизации комбинированное применение индерала с дигоксином так же дает сильно выраженное потенцирование и достоверно большой сократительный ответ.

В безкальциевой среде при месячной глицеринизации обращает на себя внимание факт усиления сокращения ПГВМ при комбинированном применении индерала с бета-ацетилдигоксином, что, по-видимому, обусловлено непосредственным действием как бета-ацетилдигоксина [10], так и индерала [7] на систему сократительных белков кардиомиоцита.

В последней серии опытов со скинированными волокнами показано, что фармакологический синергизм с потенцированием выражается в увеличении сокращения скинированных

волокон миокарда, проявляющемся при комбинировании индерала с дигоксином, так и с бета-ацетилдигоксином (в кальциевой среде) и индерала с дигоксином — в среде без кальция.

Таким образом, в экспериментах на ПГВМ обосновано комбинированное применение сердечных гликозидов дигоксина и бета-ацетилдигоксина с бета-блокатором индералом.

Обнаружено явление фармакологического синергизма с потенцированием индерала и дигоксина, что выражается в мощном сокращении как ПГВМ, так и скинированных волокон миокарда.

Обнаруженное явление потенцированного синергизма ведущих фармакологических средств — бета-блокаторов и сердечных гликозидов, имеет существенное практическое значение в решении проблемы фармакопрофилактики (сердечными гликозидами) синдрома гиподинамии (по Карлману), вызванной бета-блокаторами, и в сохранении основных фармакологических эффектов (антиангинального, гипотензивного) бета-блокаторов при длительном лечении ишемической болезни сердца.

## ЛИТЕРАТУРА

1. Абрамец И. И., Комиссаров И. В. Фармакол и токсикол, 2, 231—237, 1975.
2. Гвишиани Г. С., Турманаули Г. С. Изв. АН ГССР, сер. биол., 5, 417—421, 1976.
3. Гвишиани Г. С., Турманаули Г. С. Сб. трудов ТГМИ, 29, 76—80, 1979.
4. Гвишиани Г. С., Квачадзе Д. А., Турманаули Г. С. Фармакология — здравоохранению (Тез. IV Всесоюзного съезда), Л., 1976, 43—44.
5. Гвишиани Г. С., Квачадзе Д. А., Турманаули Г. С. Сб. трудов ТГМИ, 30, 52—58, 1980.
6. Грацианский Н. А., Карпов Ю. А., Евдокимов В. В. Тер. арх., 10, 33—39, 1980.
7. Каверина Н. В., Розанов Ю. Б., Чичканов Г. Г. Современные аспекты антиангинального действия фармакологических средств, М., «Медицина», 1980.
8. Кавтарадзе В. Г., Хаиндрава Н. К., Карсанов Н. В. Биофизические основы патологического состояния мышц и энергетическое обеспечение сократительного аппарата, Тбилиси, «Мецниереба», 1973, 88—89.
9. Карсанов, Н. В. Вопросы биохимии нервной и мышечной систем, Тбилиси, «Мецниереба», 1979, 76—83.
10. Карсанов Н. В., Гучуа Э. И. Изв. АН ГССР, сер. биол., 10, 244—251, 1984.
11. Карсанов Н. В., Магалдадзе В. А., Мамулашвили Л. Д. Труды Ин-та клин. и экспер. кардиологии, Тбилиси, X—XI, 1971, 287—293.
12. Квачадзе Д. А., Турманаули Г. С., Цуцкирадзе И. И. Сообщения АН ГССР, 2, 437—440, 1981.
13. Кроленко С. А., Пак А. Д., Федоров В. В. Цитология, 15, 301—309, 1973.
14. Меевсон Ф. З., Пшенникова М. Г., Погосян Л. А. Механизм кардиотони-

ческого действия гликозидов, М., «Медицина», 1968.

15. Меерсон Ф. З., Уголев А. А. Кардиология, 20, 63—65, 1980.
16. Миронова М. И., Бутенко Т. И. Фармакол. и токсикол., 5, 630—636, 1977.
17. Самвелян В. М., Джанполадян Е. Г., Львов М. В., Алоян Г. А., Малакян М. Г. Кровообращение, 18, 11—13, 1985.
18. Сидоренко Б. А., Касаткина Л. В. Кардиология, 19, 70—73, 1979.
19. Сукоян Г. В., Татулашвили Д. Р., Карсанов Н. В. Ультроструктурные основы патологии сердца и сосудов (Мат. конф.), Тбилиси, «Медицинера», 1985, 210—211.

20. Турманаули Г. С. Сообщения АН ГССР, 3, 697—700, 1976.
21. Чазов Е. И., Боголюбов С. М. Нарушения ритма сердца, М., «Медицина», 1972, 140—174.
22. Чекман И. С., Викторов А. П. Фармакол. и токсикол., 6, 723—730, 1978.
23. Davey D. F., Dulhunty A. F., Fatkin D. J. Membr. Biol., 53, 223—237, 1980.
24. Elison C., Fairhurst A. S., Howell J. N., Jenden D. J. J. Cell. Comp. Physiol., 65, 133—140, 1965.
25. Fairhurst A. S., Palus D. A., Jenden D. J. Circulat. Res., 21, 443—438, 1967.
26. Szent-Györgyi A. G. Biol. Bull., 96, 140—161, 1949.

ბულის კუნთის უკუგზავდა ცილებზე კარდიოტროპული საშუალებების ფარმაკოლოგიური მოქმედების მექანიზმები

ბ. თურმანაული, ე. იაროვაია, ნ. კარსანოვი

თბილისის სახელმწიფო სამედიცინო ინსტიტუტი  
საქართველოს სსრ ჯანმრთელობის დაცვის სამინისტროს სამედიცინო ბიოფიზიკის რესპუბლიკური სამეცნიერო-კვლევითი ცენტრი, თბილისი

რეზიუმე

ექსპერიმენტში მოკარდიუმის გლიცერინიზებულ და სკინირებულ ბოჭკოებზე ნაჩვენებია, რომ დიგოქსინი და ინდერალი ცვლიან მიოფიბრილების შეკუმშვის უნარს შეკუმშვად ცილებზე შემოქმედებით.

დიგოქსინისა და ინდერალის კომბინირებული გამოყენება იძლევა ფარმაკოლო-

გიურ სინერგიზმს პოტენცირებით, რომელიც ვლინდება მოკარდიუმის გლიცერინიზებულ და სკინირებულ ბოჭკოების შეკუმშვადობის გაძლიერებაში სარკოპლაზმურ რეტკულუმსა და შეკუმშვად ცილებზე უშუალო მოქმედების გზით.

## THE MECHANISM OF PHARMACOLOGIC EFFECT OF CARDIOTROPIC AGENTS ON THE MYOCARDIAL CONTRACTILE PROTEIN SYSTEM

G. S. TURMANAULI, E. V. YAROVAYA, N. V. KARSANOV

Tbilisi State Medical Institute, Tbilisi, USSR  
The Republican Research Centre of Medical Biophysics of the Georgian SSR Public Health Ministry, Tbilisi, USSR

S u m m a r y

It has been shown in experiments on glycerinated and skinned myocardial fibre bundles that digoxin and inderal change the myofibril contractibility by affecting the myocardial contractile protein system.

The combined application of digoxin and inderal gives a pharmacologic sy-

nergism with potentiation that manifests itself in increased contraction of the myocardial glycerinated fibre bundles and skinned myocardial fibres through a direct influence of cardiac glycosides and  $\beta$ -blockers on sarcoplasmic reticulum and contractile protein system of the myocardium.

УДК 569+551.781

ПАЛЕОБИОЛОГИЯ

## КРАТКИЙ ОБЗОР ПАЛЕОГЕНОВОЙ И РАННЕМИОЦЕНОВОЙ ФАУН НАСЕКОМОЯДНЫХ ЗАЙСАНСКОЙ ВПАДИНЫ (ВОСТОЧНЫЙ КАЗАХСТАН)

Л. К. Габуня, В. Дж. Габуня

*Институт палеобиологии им. Давиташвили АН ГССР, Тбилиси*

Богатая коллекция остатков насекомоядных, происходящих из различных континентальных толщ палеогена и раннего неогена Зайсанской впадины (Восточный Казахстан), содержит более пятидесяти таксонов, относящихся к семействам Eginaceidae, Talpidae и Soricidae, а также, по-видимому, Dormaliidae и Plesiosoricidae. Краткий обзор этого ископаемого материала показывает, что на протяжении палеогена господствующую группу насекомоядных представляли ежовые (Eginaceidae), центр радиации которых находился, по всей видимости, в Азии. В самом начале миоцена намечается резкое обновление фауны. Ведущую роль начинают играть кротовые (Talpidae), азиатское происхождение которых также не вызывает особых сомнений.

Коллекция ископаемых остатков насекомоядных, собранная в Зайсанской впадине (Восточный Казахстан) совместной экспедицией Палеонтологического института АН СССР и Института палеобиологии АН ГССР и любезно переданная нам для обработки Н. С. Шевыревой, содержит более 1600 экземпляров, относящихся к временному интервалу от среднего эоцена до среднего миоцена включительно. Материал представлен главным образом изолированными зубами. Гораздо реже встречаются обломки челюстей.

Исключительное богатство фауны ископаемых насекомоядных и принадлежность ее к различным уровням кайнозоя Призайсанья обуславливают значительный научный интерес этого материала. Поэтому заслуживают внимания уже первые результаты выполненной нами работы по определению и предварительному анализу зайсанской фауны. Примечательно, что исследование этой коллекции мелких млекопитающих позволило выявить присутствие в палеогене Зайсана, наряду с насекомоядными, также очень редких пред-

ставителей рукокрылых [2] и сумчатых [1, 3].

В нижней части среднего эоцена (обайлинская свита) найден пока лишь один обломок (талонид  $M_1$  или  $M_2$ ) зуба насекомоядных, относящийся, по всей видимости, к Eginaceidae. Однако самая древняя достоверная находка ежовых (сем. Eginaceidae) происходит из саргамынской свиты (вторая половина среднего эоцена) и относится, скорее всего, к особому, новому виду рода Turaiodon (рис. 1-1). Дальнейшее изложение убедит нас в том, что среди ископаемых насекомоядных Призайсанья ежовые отличаются особым богатством и разнообразием. Они встречаются почти во всех горизонтах палеогена и нижнего миоцена этой области (таблица). В нижней части аксырской свиты (поздний эоцен) явно намечается дифференциация ежовых. Наряду с Turaiodon и Ictopidium (рис. 1-3,4), здесь уже распространены волосатые ежи (Galericinae) (рис. 1-2,6). Еще большего разнообразия достигают ежовые в среднем аксыре, датированном самыми верхами эоцена или низами олигоцена. В этой



подсвете насекомоядные представле-  
ны как своеобразными Eginaceidae  
(рис. 1-10), так и другими, возмож-  
но, эндемичными группами. Одна из

них характеризуется развитием на  
верхних молярах крупного  
лярного бугорка (рис. 1-9), чем  
он несколько напоминает плезио-

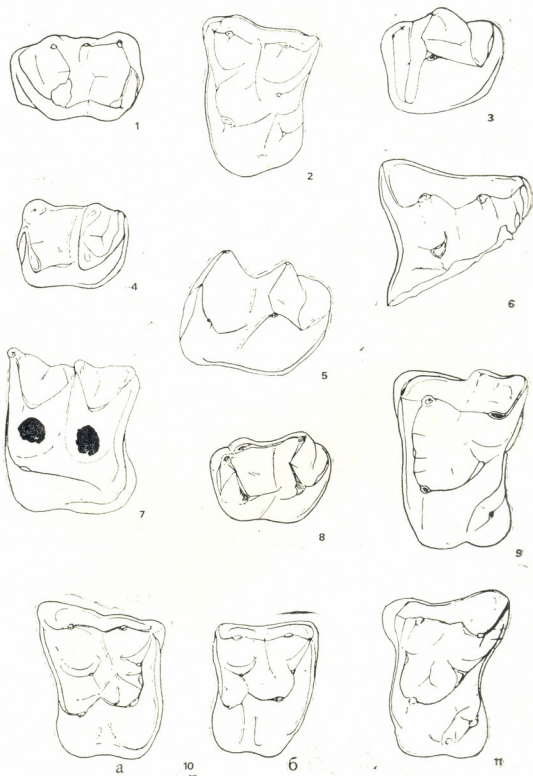


Рис. 1. 1—*Tupaiodon* sp.,  $M_2$ , X 17; 2—*Galericinae* cf. *Pseudoneurogymnurus*,  $M^2$ , X 16; 3—*Ictopidium* cf. *Iechei*,  $P^4$ , X 16; 4—*Ictopidium* sp.,  $M_2$ , X 16; 5—*Tupaiodon* sp., X 16; 6—*Galericinae* gen., X 17; 7—*Uropsilinae* gen.,  $M^1$ , X 16; 8—*Erinaceidae* cf. *Dormaliidae*,  $M_2$ , X 16; 9—*Soricidae* cf. *Plesiosoricidae*,  $M^2$ , X 16; 10—*Erinaceidae* gen. nov.,  $M^1(a)$ ,  $M^2(b)$ , X 16; 11—*Tupaiodon* sp. nov.,  $M^1$ , X 16

сороксов (*Plesiosorex*), а другой наличием на нижних молярах сильно развитого гипоконулида (рис. 1-8), сближающего его с *Dormaliidae*. На-

конец, здесь, кроме настоящих и волосатых ежей, присутствуют землеройковые (рис. 1-7) и кротовые [4].  
В верхнеаксырской и кустовской

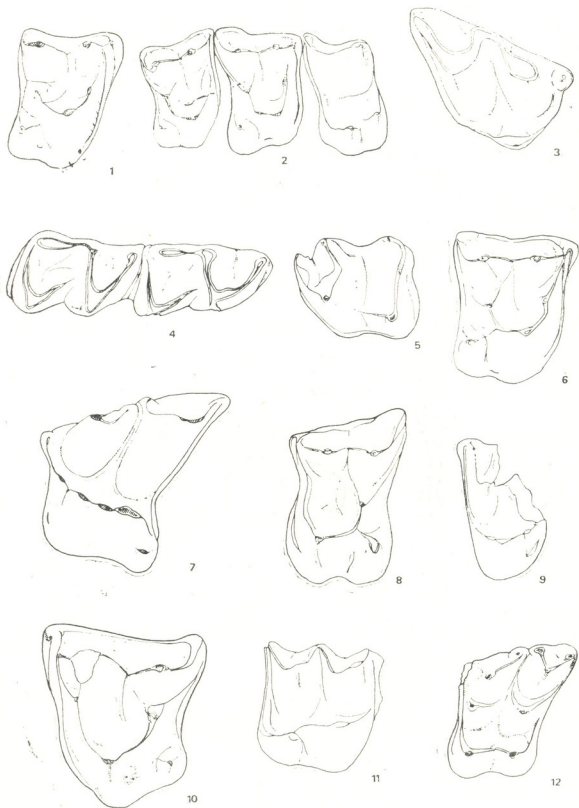


Рис. 2. 1 — *Galericinae* gen. nov. (A),  $M^2$ , X 16; 2 — *Tupaiaodon* sp. nov.,  $P^1-M^3$ , X 16; 3 — *Desmaninae* gen.,  $M^2$ , X 17; 4 — *Gobisorex* cf. *kingae*,  $M_1-M_2$ , X 16; 5 — *Ictopidium* cf. *tatalgolensis*,  $M_2$ , X 15; 6 — *Galericinae* gen. nov. (B), X 17; 7 — *Heterosoricinae* gen.,  $M^1$ , X 17; 8 — *Galericinae* cf. *Pseudoneurogymnurus*  $M^1$ , X 16; 9 — *Urotrichini* gen.,  $M^2$ , X 16; 10 — *Amphelichinus* sp.,  $M^2$ , X 13; 11 — *Heterosoricinae* gen.,  $M^1$ , X 16; 12 — *Schizogalerix* sp.,  $M^1$ , X 16

Стратиграфическое распространение фауны насекомых в палеогене и раннем неогене Зайсанской впадины

Эпохи	Свиты	Фауны насекомых	
Верхний мiocен	Зайсанская	<i>Amphechinus</i> sp., <i>Galericinae</i> gen., <i>Schizogalerix</i> sp., <i>Desmaninae</i> gen. (A), <i>Desmaninae</i> gen. (B), <i>Talpidae</i> inc. sedis	
	Акжарская	<i>Amphechinus</i> sp. nov., <i>Amphechinus</i> sp., <i>Galericinae</i> gen., <i>Erinaceidae</i> inc. sedis, <i>Desmaninae</i> gen. (A), <i>Desmaninae</i> gen. (B), <i>Desmaninae</i> cf. <i>Desmanella</i> , <i>Mygalea</i> sp., <i>Talpidae</i> inc. sedis	
О Л И Г О Ц Е Н	Верхний	Нуринская	
		Ошагандинская	
	Средний	Буранская	<i>Amphechinus</i> cf. <i>rectus</i> , <i>Amphechinus</i> sp., <i>Tupaiodon</i> sp., <i>Ictopidium</i> cf. <i>tatalgolensis</i> , <i>Ictopidium</i> sp., <i>Galerix</i> sp., <i>Pseudoneurogymnurus shevirevae</i> , <i>P. zchickvadzei</i> <i>Galericinae</i> gen., <i>Talpinae</i> gen., <i>Talpinae</i> cf. <i>Urotrichini</i> , <i>Talpidae</i> inc. sedis, <i>Desmaninae</i> gen., <i>Uropsilinae</i> gen., <i>Gobisorex</i> cf. <i>kingae</i> , <i>Heterosoricinae</i> gen.
		Нижний	Кустовская
	Аксыирская		<i>Amphechinus</i> sp., <i>Tupaiodon</i> sp. nov., <i>Tupaiodon</i> sp., <i>Ictopidium</i> sp., <i>Galericinae</i> gen. nov., <i>Galerix</i> sp., <i>Galericinae</i> gen., <i>Erinaceidae</i> inc. sedis, <i>Talpidae</i> inc. sedis
		<i>Tupaiodon</i> sp. nov., <i>Tupaiodon</i> sp., <i>Ictopidium</i> sp., <i>Erinaceidae</i> gen. nov., <i>Galericinae</i> gen. nov., <i>Galericinae</i> gen., <i>Erinaceoidea</i> cf. <i>Dormaliidae</i> , <i>Heterosoricinae</i> gen., <i>Uropsilinae</i> gen. <i>Talpinae</i> gen.	
Э О Ц Е Н	Верхний		<i>Tupaiodon</i> sp., <i>Ictopidium</i> cf. <i>lechei</i> , <i>Ictopidium</i> sp., <i>Erinaceinae</i> cf. <i>Tetracus</i> , <i>Erinaceinae</i> gen. nov., <i>Galericinae</i> cf. <i>Pseudoneurogymnurus</i> , <i>Galericinae</i> gen.
		Кызылкаинская	
		Чайбулакская	
	Средний	Конуркуринская	
		Саргамысская	<i>Tupaiodon</i> sp.
		Обайлинская	<i>Erinaceoidea</i> cf. <i>Dormaliidae</i>
Нижний	Чакпактасская		



свитах (нижний олигоцен) отмечается присутствие почти всех упомянутых уже групп насекомоядных (таблица); при этом волосатые ежи представлены различными формами, а среди настоящих ежей ведущую роль играют виды рода *Tupaion* (рис. 2-1,2). Господство ежевых продолжается и в среднеолигоценное время (буранская свита), когда, наряду с ранее известными тупайодомами и иктиподиумами (таблица), получают распространение амфехинусы (*Amphexinus*) и виды эндемичного рода *Pseudoneurogymnurus*, а также какой-то своеобразный представитель *Calericinae* (рис. 2-6,8,10). В это время, по-видимому, впервые появляются бегающие кроты (рис. 2-9) и выхухолы, напоминающие *Desmanella* (рис. 2-3), а землеройковые (рис. 2-7,11) испытывают дальнейшую дифференциацию. Присутствие в буранском комплексе *Tupaion cf. morrisi* Matt. a. Gr. [6], *Gobisorex cf. kingae* Sul. и *Ictopidium cf. tatalgolensis* Sul. [7] явно сближают его со среднеолигоценной фауной Монголии (Хсанда-Гол, Татал-Гол).

Сведения о насекомоядных позднего олигоцена у нас, к сожалению, отсутствуют, но ранний миоцен может быть охарактеризован довольно богатым комплексом из акжарской и зайсанской свит (таблица), свидетельствующим о заметном господстве кротовых (*Talpidae*). Правда, по-прежнему часто встречаются еще амфехинусы, достигающие необычно крупных для этой группы размеров, но явно преобладают в этом комплексе кротовые подсемейства *Desmaninae*, которые указывают, по-видимому, на широкое распространение влажных биотопов. Здесь отмечается первое появление такого своеобразного представителя галеридов, как *Schizogalegix* (рис. 2-12), получившего исключительно широкое распространение в среднемиоценовое время (сарыбулак-

ская свита). Однако нельзя не обратить внимания на слишком преходящее состояние эволюции этого схизогалеридкса, что заставляет несколько усомниться в его действительной принадлежности к акжарской свите (возможно, впрочем, что он относится к особой, рано эволюировавшей ветви этих галеридов).

Из приведенного общего обзора третичной фауны насекомоядных Зайсанской впадины явствует, что в палеогене этой области господствующее положение занимают ежевые (*Eriacidae*), достигшие уже в эоцене довольно значительной степени экологической дифференциации. Имеется полное основание думать, что ежевые произошли в Азии, являвшейся, таким образом, областью первоначального расселения этой обширной группы насекомоядных [8]. В Азии берут свое начало, по-видимому, также землеройковые и кротовые, достигающие особого богатства и разнообразия уже в раннем миоцене, когда они становятся здесь преобладающей группой насекомоядных.

Трудно увязать это раннемиоценовое обновление фауны насекомоядных с какими-либо климатическими изменениями общего характера. Можно лишь думать, что обилие плавающих кротов связано с наметившимся здесь еще в конце олигоцена увеличением влажности, оказавшим влияние также на смену флоры и растительного покрова [5].

Отмеченная близость некоторых буранских форм к таталголским свидетельствует о довольно тесных связях, существовавших в олигоцене между фаунами млекопитающих Зайсана и Центральной Азии. В то же время заметный эндемизм зайсанской фауны в целом указывает, нам думается, на ее частичную зоогеографическую изоляцию, обусловленную обстановкой обширной предгорной впадины.



# ლიტერატურა

1. გაბუნია ლ., შევერიძე ვ., გაბუნია ვ. საქართველოს სსრ მეც. აკადემიის მ-ამბე, 116, 1, 169—171, 1984.

2. გაბუნია ლ. კ., გაბუნია ვ. დჯ. Сообщения АН ГССР, 126, 1, 197—200, 1987.

3. გაბუნია ლ. კ., Шевырева Н. С. გაბუნია ვ. დჯ. ДАН АН СССР, 281, 3, 684—685, 1985.

4. გაბუნია ლ. კ., გაბუნია ვ. დჯ.

Сообщения АН ГССР, 125, 3, 649—651, 1987.

5. Новодворская И. П. Труды палеонтол. ин-та АН СССР, 146, 141—155, 1974.

6. Matthew W. D., Granger W. Amer. Mus. Novitates, 105, 1—7, 1924.

7. Sulimski A. Palaeont. Pol., 21, 53—70 1970.

8. Butler P. M. Palaeovertebrata, 14, 3, 117—200, 1984.

## ზაისანის ტაფობის (აღმ. ყაზახეთი) პალეოგენური და ადრე ნეოგენური მფერიჭამიების ფაუნათა მოკლე მიმოხილვა

ლ. გაბუნია, ვ. გაბუნია

საქართველოს სსრ მეცნიერებათა აკადემიის პალეობიოლოგიის ინსტიტუტი, თბილისი

### რეზიუმე

მწერიჭამიების ორმოცდაათზე მეტ ტაქსონს შეიცავს დაახლოებით 1600 ნეკემპლარისაგან შემდგარი კოლექცია, რომელიც ზაისანის (აღმ. ყაზახეთი) პალეოგენური და ადრე ნეოგენური კონტინენტური ნალექების სხვადასხვა წყებიდან წარმოდგება. ამ ნიმარხი მწერიჭამიების მოკლე მიმოხილვა გვიჩვენებს, რომ პალეოგენური დროის მანძილზე გაბატონებულ ჯგუფს

შეადგენდნენ ზღარბისნაირნი (Erinaceidae), რომელთაც მოცენის დასაწყისში დიდწილად თხუნელასნაირნთა (Talpidae) ფაუნა შეენაცვლა. ზღარბების დიდი სიჭარბე უთუოდ იმას მოწმობს, რომ აზია მწერიჭამიათა და ოჯახის რადიაციის ცენტრს წარმოადგენდა. თითქმის არ იწვევს ეჭვს აგრეთვე თხუნელასნაირნთა აზიური წარმოშობა.

## PRELIMINARY REPORT ON INSECTIVORE FAUNAS FROM THE PALEOGENE AND EARLY NEOGENE OF THE ZAISSAN DEPRESSION (EAST KAZAKHSTAN)

L. K. GABUNIA, V. J. GABUNIA

L. Davitashvili Institute of Palaeobiology, Georgian Academy of Sciences, Tbilisi, USSR

### Summary

More than 50 taxa of insectivora are present in a collection of approximately 1600 specimens from different formations of Paleogene and early Neogene continental deposits of Zaisan (east Kazakhstan). A brief review of these fossil insectivores shows the sharp predominance of Erinaceidae in the course of the

Paleogene which were to a considerable degree replaced by Talpidae at the beginning of the Miocene. The abundance of Erinaceidae proves that Asia was the centre of radiation of this family. It is almost certain that Talpidae also was a group of asiatic origin.

УДК 576.8.095.38

ВИРУСОЛОГИЯ

## ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНАЯ СМЕШАННАЯ ИНФЕКЦИЯ, ВЫЗВАННАЯ TRICHOPHYTON RUBRUM, ПАРАМИКСОВИРУСОМ (ВИРУС СЕНДАЙ) И ОНКОВИРУСАМИ ТИПА А И С

А. Г. Кацитадзе

*Тбилисский государственный медицинский институт*

Поступила в редакцию 13.10.1986

Электронномикроскопически изучены особенности морфогенеза онковирусов типа А и С, вируса Сендай и гриба *Trichophyton rubrum* при экспериментальной вирус-грибковой инфекции в культуре клеток L-929. Установлено, что несмотря на развитие выраженного цитопатогенного эффекта под действием гриба основные этапы морфогенеза онковирусов и вируса Сендай сохранены. При смешанном инфицировании цистернавируса типа А, онковируса С, вируса Сендай и *T. rubrum* отдельные элементы вируса Сендай, в частности рибонуклеопротеид, включаются в состав онковируса. В условиях смешанной инфекции обнаружены многочисленные аномальные (минимальные) формы онковирусов, а также цистернавирусы типа А с фрагментированными нуклеоидами.

В последние годы проблема ассоциированной инфекции привлекает к себе особое внимание, что прежде всего вызвано значительным удельным весом сочетанных вирус-вирусных, вирус-микоплазменных, вирус-бактериальных инфекций различных систем организма. С другой стороны, интерес к смешанным инфекциям обусловлен тем, что по сей день остаются еще недостаточно решенными многие стороны ассоциированного взаимоотношения возбудителей различных таксономических групп. При микробном синергизме возможна реализация следующих типов взаимодействия: 1) микроорганизмы снижают резистентность макроорганизма и таким образом 2) способствуют проникновению и проявлению потенций иных возбудителей; 3) микроорганизмы способствуют размножению и накоплению других микроорганизмов, а также выделяют вещества, необходимые для развития или повышения вирулентности синергичных инфекционных агентов [12].

Особый интерес представляет изучение взаимодействия в условиях смешанной инфекции онкогенных и инфекционных вирусов, а также инфекционных агентов различных таксономических групп [6, 8, 10, 11, 13, 14, 16], что обусловлено поисками бактери-антагонистов неопластических процессов. В противоположность приведенным данным на модели культуры клеток НЕр-2 была показана активация онковируса типа Д, продуцируемого этой культурой, после совместного культивирования его с микобактерией туберкулеза [1]. По мнению Флересхайм с соавт. [9] компоненты клеток грибов или продукты их метаболизма обладают цитотоксической активностью, что может иметь определенное значение в онкологии. Однако, вполне возможно, что гриб или продукты его метаболизма, наоборот, способствуют процессу канцерогенеза, принимая во внимание полученные нами ранее данные об активации процесса морфогенеза онковируса типа Д в культуре клеток НЕр-2 под влиянием гриба *Trichophyton rubrum* [5].

В этой связи целью настоящего исследования было установление особенностей взаимодействия онкогенных вирусов (цистернавирус типа А и онковирус типа С), парамиксовируса (вирус Сендай, используемый как модельный штамм для характеристики семейства парамиксовирусов) и гриба (*Tr. rubrum*).

## МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Культуру клеток L-929 выращивали в чашках Карреля; для культивирования клеток использовали гидролизат лактальбумина и среду Игла с глутамином и антибиотиками (пенициллин и стрептомицин). На третьи сутки после посева монослой клеток заражали вирусом Сендай (исходный титр 160—320 геммагглютинирующих единиц). После контакта вируса с клетками в течение 60 мин вносили смыв 14-дневной культуры *Tr. rubrum*, выращенной на сусло-агаре (множественность заражения составляла 10 элементов гриба на 1 клетку монослоя). Монослой клеток фиксировали через 3, 6, 12, 24, 48, 72 ч после заражения 4%-ным глутаровым альдегидом на 0,1 М какодильном буфере (pH 7,4) в течение 24 ч при 4°C, затем отмывали какодильным буфером. Дальнейшую фиксацию осуществляли по Дэлгону [7]. Моно-

удобной моделью для изучения вирус-грибковой ассоциации является культура клеток L-929, которая является чувствительной для воссоздания экспериментальной микотической инфекции и цитопатогенного действия вируса Сендай, а также спонтанно инфицированной онковирусами типа С и цистернавирусами типа А [2].

слой обезвоживали в спиртах восходящей концентрации и ацетоне и заливали смесью заливочных материалов Araldit Harter и Araldit M. Полимеризация проводилась вначале при 37°C в течение суток, затем при 56°C в течение двух суток. Отделение плоскопараллельного пластмассового диска от стекла осуществляли жидким азотом. Диск полимера просматривали под фазовым контрастом, выбирали единичные клетки или группы клеток, вырезали их, наклеивали на пластмассовые столбики и затачивали пирамидку. Ультратонкие срезы толщиной 15—30 нм получали на ультратоме LKB-4800, далее контрастировали 1%-ным водным раствором уранилацетата в течение 15—30 мин, затем докрашивали лимоннокислым свинцом [15]. Препараты просматривали в электронном микроскопе JEM-100 CX II (Япония).

## РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

Первым этапом взаимодействия клетки L-929 и гриба является адсорб-

ция последнего на клеточных отростках и проникновение возбудителя внутрь клетки, что наблюдается к

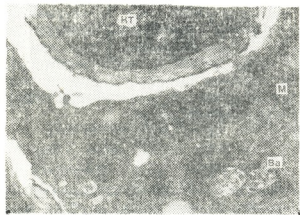


Рис. 1. Участок клетки L-929, инфицированной *Trichophyton rubrum*, X 40000: М — митохондрия; Ва — внутриклеточная вакуоль, содержащая скопления онковируса типа С; стрелкой обозначено почкование онковируса в фагосоме, содержащей грибок

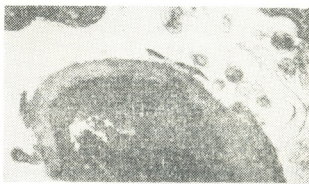


Рис. 2. Участок *Tr. rubrum* в культуре клеток L-929, инфицированной вирусом Сендай и онковирусами типа С. X 80000

6—12 ч инфицирования. В дальнейшем развивается цитопатогенное действие (ЦПД), что проявляется в из-

менении субмикроскопической организации клетки. Развитие ЦПД происходит как под влиянием гриба, так и вируса Сендай. Несмотря на развитие ЦПД под действием гриба, проявление экспериментальной смешанной вирус-грибковой инфекции наблюдается не только на уровне клеточной популяции, но и на уровне отдельных клеток (рис. 1,2). Однако, даже в присутствии гриба, основные этапы мор-

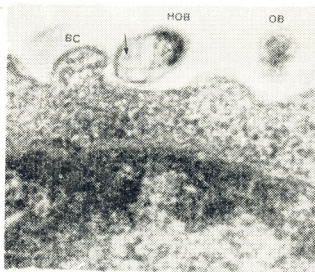


Рис. 3. Формирование онковируса и вируса Сендай на поверхности клетки L-929, инфицированной *Tr. gibbim*.  $\times 150000$ ; BC — вирус Сендай; NOV — внеклеточный незрелый онковирус типа С; OB — зрелый онковирус типа С; стрелкой обозначены тяжи рибонуклеопротеида (РНП) вируса Сендай, включенные в незрелый онковирус

фогенеза онковируса сохранены. Почкование онковируса типа С происходит в зону контакта с *Tr. gibbim* и возможность этого процесса сохранена на поверхности клеток, находящихся на стадии деструкции. При заражении культуры L-клеток вирусом Сендай и *Tr. gibbim* подобная закономерность сохраняется. При одновре-

менном инфицировании цистернавирусом типа А, онковирусом типа С, вирусом Сендай и *Tr. gibbim* культуры клеток L-929 смешанная инфекция наблюдается и на уровне отдельных клеток. Формирование вируса Сендай и онковирусов происходит нередко в топографической близости на поверхности инфицированной клетки (рис. 3). При этом отдельные элементы вируса Сендай, в частности рибонуклеопротеид, включаются в состав онковируса.

В условиях смешанной инфекции обнаружены различные аномальные формы онковирусов — минимальные формы, которые были описаны ранее [3]. В популяции цистернавирусов типа А обнаружены многочисленные

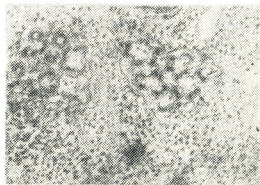


Рис. 4. Скопления внутрицистернальных онковирусов типа А в клетках L-929, инфицированных вирусом Сендай и *Tr. gibbim*.  $\times 100000$ ; стрелкой обозначены аномальные формы онковируса

вирусы с фрагментированными нуклеоидами (рис. 4).

Надо полагать, что обнаруженная способность рибонуклеопротеида вируса Сендай включаться в состав онковируса является еще одним подтверждением предположения о роли вирусов в обмене генетической информации в биосфере [4].

## ЛИТЕРАТУРА

1. Быковский А. Ф., Бахуташивили В. И., Окуджава Н. М., Гостева В. В. В сб.: Вирусы рака и лейкоза, М., Ин-т вирусологии им. Д. И. Ивановского АМН СССР, 1979, 84—85.
2. Быковский А. Ф., Клицунова Н. В., Миллер Г. Г., Мартыненко В. Б., Горохова Л. В. Онкогенные вирусы, Медицина, М., 1983.
3. Быковский А. Ф., Клицунова Н. В., Глинских Н. П. *Вопр. вирусол.*, 1, 76—82, 1977.
4. Ирлин И. С., Быковский А. Ф., Жданов В. М. *Вопр. вирусол.*, 2, 230—234, 1973.
5. Кацитадзе А. Г. Экспериментально-клиническое изучение интерферона при микозе, обусловленном красным трихо-





ფიზიკ., Автореф. канд. дисс., Тбилиси, 1984.

6. Миллер Г. Г. Особенности морфогенеза вирусов в условиях смешанных инфекций, М., ВИНТИ, 1980, 40—113.
7. Dalton A. Anat. Res., **121**, 281, 1955.
8. Eddy B. E. Progr. Immunobiol. Stand., **5**, 216—225, 1972.
9. Floeresheim G. L., Grundmann H. P., Looser R., Meyer J. C. Lancet, **2**, 708—710, 1982.
10. Israel L., Halpern B. Nouv. Press Med., **1**, 19—23, 1972.
11. Lemonde P., Dubrevil R., Guidon A., Lussier G. J. Nat. Cancer Inst., **47**, 1013—1024, 1971.
12. Mackowiak Ph. A. The New England J. of Medicine, **298**, 21—26, 1978.
13. Paslin D., Dimitrov N., Heaton Ch. J. Nat. Cancer Inst., **52**, 571—573, 1974.
14. Suzuki S., Yamamoto A., Ogawa H. Gann. Jap. J. Cancer Res., **66**, 455—456, 1975.
15. Venable J. H., Coggeshall R. J. Cell Biol., **25**, 407—408, 1965.
16. Veskova T., Chimishkyan K., Svet-Moldavsky G. J. Nat. Cancer Inst., **52**, 1651—1653, 1974.

წიმიელი ტრიქოფიტონის, სენდაის ვირუსით და A და C ტიპის ონკოვირუსებით გამოწვეული შერეული ექსპერიმენტული ინფექცია

ა. კაციტაძე

თბილისის სახელმწიფო სამედიცინო ინსტიტუტი

რეზიუმე

ელექტრონულ-მიკროსკოპულად შესწავლილ იქნა A და C ონკოვირუსების, სენდაის ვირუსის და სოკოპარაზიტის *Trichophyton rubrum* მორფოგენეზის თავისებურებანი ექსპერიმენტული შერეული ინფექციის დროს. დადგინდა, რომ სენდაის

ვირუსის ცალკეული ელემენტები, კერძოდ კი რიბონუკლეოპროტეიდი ერთვება ონკოვირუსის სტრუქტურაში, რაც იწვევს ე. წ. ჰეტეროლოგიური ვირუსის ფორმირებას.

EXPERIMENTAL MIXED INFECTION, CAUSED BY TRICHOPHYTON RUBRUM, SENDAI VIRUS AND ONCOVIRUSES A AND C TYPES

A. G. KATSITADZE

State Medical Institute, Tbilisi, USSR

S u m m a r y

The differentiations of oncoviruses A and C types, Sendai virus and fungus *Trichophyton rubrum* morphogenesis during experimental mixed infection, caused by these agents, were studied by electron microscopic methods. During this

infection separate elements of Sendai virus, namely its ribonucleoproteid, include into the oncovirus structure resulting in the formation of the so-called heterologic virus.

УДК 612.112.94 : 612.118.221.2 : 6 : 05 (47922)

ИММУНОЛОГИЯ

## HLA У БОЛЬНЫХ СИСТЕМНОЙ КРАСНОЙ ВОЛЧАНКОЙ В ГРУЗИНСКОЙ ПОПУЛЯЦИИ

Н. И. Махатадзе, В. В. Яздовский, В. В. Меунаргия,  
Н. Г. Каландадзе

*НИИ гематологии и переливания крови им. акад. Г. М. Мухадзе МЗ ГССР*

Поступила в редакцию 24.12.1986

Представлены результаты изучения распределения антигенов комплекса HLA локусов А и В в группе больных системной красной волчанкой в грузинской популяции (38 человек). В качестве контроля использованы данные о распределении HLA-антигенов у 492 доноров крови — грузин. Проведенное исследование не выявило какой-либо значимой ассоциации системной красной волчанки с изучаемыми антигенами I класса в данной группе европеоидов, что свидетельствует не только о важности популяционных исследований в различных регионах страны, но и о необходимости выявления локально-специфических ассоциаций комплекса HLA с заболеваниями.

Главный генетический комплекс гистосовместимости человека — HLA — играет ведущую роль в регуляции иммунного ответа и поддержании иммунологического гомеостаза организма [6, 7]. Именно с этих позиций рассматривается в настоящее время взаимосвязь между HLA-антигенами и заболеваниями [1]. Данные, полученные при разработке проблемы «HLA и болезни», приобретают все большее значение для прогноза и профилактики болезней, выявления иммунологических основ их патогенеза, и вместе с тем являются неоценимым источником информации о функции HLA и генов иммунного ответа человека. Как показано исследованиями последних лет, специфические аллельные ассоциации HLA-комплекса с заболеваниями отличаются в различных этнических группах [9—12]. С наиболее распространенным среди европеоидов HLA-гаплотипом А1—В8 и входящими в него аллелями [3, 8] ассоциирована среди европеоидов предрасположенность к целой группе аутоиммунных заболеваний, в том числе

и к системной красной волчанке (СКВ). Вместе с тем среди монголоидов, например у японцев, HLA-антигены А1, В8 практически отсутствуют. Исследования ассоциации СКВ и некоторых других аутоиммунных заболеваний с HLA-антигенами среди японцев не выявили какой-либо значимой ассоциации с HLA-антигенами I класса [10, 11].

Проведенное ранее изучение распределения HLA-антигенов в грузинской популяции позволило обнаружить снижение частоты HLA-антигенов А1, В8 и гаплотипа А1-В8 по сравнению с другими популяциями европеоидов [4, 5]. Представлялось целесообразным выяснить являются ли HLA-антигены А1, В8 маркерами предрасположенности к СКВ в данной популяции европеоидов? К настоящему времени этот вопрос не исследован. Для его решения проведено изучение распределения HLA-антигенов в группе больных СКВ грузинской национальности.

**МЕТОДИКА**

Обследовано 38 больных СКВ (34 женщины и 4 мужчины) в возрасте от 17 до 50 лет. Диагноз во всех случаях был достоверным и основывался на характерных клинических проявлениях заболевания и данных лабораторно-клинического обследования, в ряде случаев подтверждался

ческие — фирм «Biotest» и «Behring». В анализе учитывали 7 антигенов HLA-A и 14 антигенов HLA-B локусов (таблица).

В качестве контроля использовали данные о распределении HLA-антигенов у 492 доноров грузинской национальности (Тбилиси).

Таблица

Частоты HLA-A,-B-антигенов (%) у больных СКВ и в здоровом контроле

HLA-антигены	Больные n=38	Контроль n=492	RR	HLA-антигены	Больные n=38	Контроль n=492	RR
A1	2,63	9,76	0,250	B12	10,53	11,79	0,880
A2	42,1	57,32	0,542	B13	2,63	9,35	0,262
A3	15,79	22,36	0,651	B14	2,63	4,47	0,577
A9	26,32	25,81	1,026	B15	5,26	8,13	0,628
A10	23,38	16,46	1,575	B16	7,89	5,49	1,476
A11	10,53	8,33	1,294	B17	5,26	4,27	1,246
AW19	7,89	6,30	1,275	B18	0	2,84	0,429
B5	31,58	33,74	0,906	B21	5,26	3,86	1,383
B7	15,79	14,43	1,112	B27	2,63	3,86	0,465
B8	2,63	8,13	0,305	B35	34,21	26,83	1,418
				B40	2,63	2,64	0,996

морфологический (биопсийной) картиной. HLA-типирование проводили в стандартном микролимфоцитотоксическом тесте. Использовали сыворотки Ленинградского НИИ гематологии и переливания крови Минздрава РСФСР, антисыворотки международной коллекции «Интертрансплант» и коммер-

Относительный риск (RR) вычисляли по формулам Вульфа или Хелдена [13]. Достоверность ассоциации определяли по критерию  $\chi^2$  для альтернативных признаков с коррекцией на непрерывность выборки по тесту Фишера для четырехпольных таблиц [2].

**РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЙ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ**

В результате сравнения частот HLA-антигенов в группах больных и здоровых (таблица) не было обнаружено достоверных различий. В группе больных СКВ наблюдалась тенденция к снижению частот HLA-антигенов A1, B8 и повышению частот антигенов HLA-A10, B16, B35.

Среди греков с болезнью Грейвса не выявлено достоверных различий в частоте HLA-антигенов I класса — по сравнению со здоровым контролем [9], в то время как в других европейских популяциях заболевание ассоциировано с HLA-антигенами A1, B8.

Полученные нами результаты, наряду со своеобразием распределения HLA-антигенов в грузинской популяции [4, 5], подчеркивают особенности в ассоциации заболеваний с HLA-комплексом, характерные для грузин.

На основании анализа полученных данных можно выдвинуть гипотезу о том, что HLA-гаплотип A1-B8-DR3 (или тесно сцепленные с ним гены) не только не является специфическим «волчаночным гаплотипом», но, возможно, с этим HLA-гаплотипом у грузин не связана предрасположенность и к другим аутоиммунным заболеваниям.

Следует отметить, что сходные с приведенными в настоящей работе данными получены в греческой популяции при изучении взаимосвязи HLA-антигенов с болезнью Грейвса (Базе-

1. Алексеев Л. П. Иммунология, 3, 5—10, 1985.
2. Браунли К. А. Статистическая теория и методология в науке и технике. «Медицина», М., 1977.
3. Зарецкая Ю. М. Клиническая иммуногенетика, «Медицина», М., 1983.
4. Махатадзе Н. И., Меунаргия В. В., Микадзе Н. Г., Далакишвили С. М., Яздовский В. В., Полянская И. С. Сообщения АН ГССР, 117, 1, 121—124, 1985.
5. Махатадзе Н. И., Меунаргия В. В., Яздовский В. В., Чагнашвили Ц. Н. Изв. АН ГССР, сер. биол., 12, 2, 135, 1986.
6. Петров Р. В. Иммунология и иммуногенетика, «Медицина», М., 1976.
7. Benacerraf B., Gormain R. N. [Immunol. Rev., 38, 70—71, 1978.
8. Contu L., Deschamps I., Lastradet H., Hors J., Schmid M., Benajem M., Marcellibarge A., Dausset J. Tiss. Ant., 20, 123—140, 1982.
9. Harsoulis P., Polumenidis Z., Visantiadis A. Acta Endocrinol. Suppl., 101, 248, 53—54, 1982.
10. Kameda S., Naito S., Tanaka K., Kajiyama K., Kunihiro K., Hishigouri S., Ianase T. Tiss. Ant., 20, 221—222, 1982.
11. Sakurami T., Ueno Y., Ywaki Y., Park M. S., Terasaki P. I., Saji H., Louic S., Takemura S. Tiss. Ant., 19, 129—133, 1982.
12. Srikanta S., Mehra N. K., Vaidya M. C., Malaviya A. M., Abuja M. M. S. Metab. Clin. Exp., 30, 10, 992—993, 1981.
13. Svejgaard A., Jersild C., Nielsen L. S., Bodmer W. F. Tiss. Ant., 4, 95—105, 1974.

HLA-ანტიგენები სისტემურ წითელი მგლურით დაავადებულ პაციენტებში

5. მახათაძე, 3. იაზდოვსკი, 3. მეუნარგია, 5. კალანდაძე

საქართველოს სსრ ჯანმრთელობის დაცვის სამინისტროს გ. მუხაძის სახელობის პემატოლოგიისა და სისხლის გადასხმის სამეცნიერო-კვლევითი ინსტიტუტი, თბილისი

რეზიუმე

სისტემური წითელი მგლურით დაავადებულ ქართველთა ჯგუფში (38 ავადმყოფი) შესწავლილია HLA-ანტიგენების A და B ლოკუსების განაწილება. საკონტროლოდ გამოყენებულია ქართველი ეროვნების 492 დონორის სისხლში HLA-ანტიგენების განაწილების მონაცემები.

ჩატარებული გამოკვლევებით არ იქნა გამოვლენილი სისტემური წითელი მგლურით

რის რაიმე მნიშვნელოვანი ასოციაცია შესწავლილი ეროპოიდული ჯგუფის პირველი კლასის ანტიგენებთან, რაც მიუთითებს ქვეყნის სხვადასხვა რეგიონებისათვის პოპულაციური გამოკვლევების მნიშვნელობასა და დაავადებებთან HLA-კომპლექსის ლოკალურ-სპეციფიკური ასოციაციის გამოვლენების მიზანშეწონილობას.

HLA ANTIGENS OF GEORGIAN PATIENTS WITH SYSTEMIC LUPUS ERYTHEMATOSUS

N. I. MAKHATADZE, V. V. IAZDOVSKI, V. V. MEUNARGIA, N. G. KALANDADZE

G. Mukhadze Research Institute of Hematology and Blood Transfusion, Georgian Ministry of Health, Tbilisi, USSR

S u m m a r y

HLA-A, -B-antigens were studied in Georgian patients with systemic lupus erythematosus (SLE). Blood specimens were obtained from 34 female and 4 male patients. Control subjects were chosen from 492 healthy persons—blood donors. Statistical analyses were carried out by

the chi-square test and/or Fisher's direct probability method. No significant difference was found in frequencies of HLA-A, -B-antigens between SLE patients and controls. The frequency of HLA-Al, B8 was decreased in SLE patients.

УДК 547.962 : 577.156

БИОФИЗИКА

## КАЛОРИМЕТРИЧЕСКОЕ ИССЛЕДОВАНИЕ ПЛАВЛЕНИЯ КОЛЛАГЕНОВЫХ ФИБРИЛЛ НАТИВНОГО ТИПА С РАЗЛИЧНОЙ ТЕРМОСТАБИЛЬНОСТЬЮ

Т. В. Бурджанадзе, М. О. Бежитадзе

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

Поступила в редакцию 16.10.1986

Описаны результаты калориметрических исследований теплот плавления коллагенов, различающихся по термостабильности в растворе и состоянию фибрилл. Показано, что энтальпия денатурации коллагена в растворе практически равна теплоте плавления коллагеновой фибриллы. Степень зависимости энтальпии денатурации от ее температуры для коллагенов различного происхождения в растворе и состояния фибрилл в пределах погрешности метода одинакова и заметно меньше, чем ранее полученная аналогичная зависимость. На основании полученных данных делается заключение, что изменение свободной энергии процесса образования коллагеновых фибрилл имеет энтропийную природу.

При физиологических условиях (температура, рН, ионная сила) процесс образования коллагеновых фибрилл *in vitro* протекает самопроизвольно и принципиально не отличается от аналогичного процесса *in vivo*. [3].

Такая аналогия дает возможность на основании термодинамических данных, полученных с растворами коллагеновых фибрилл, судить о характере сил, обеспечивающих устойчивость коллагеновых фибрилл *in vivo*.

Ранее [4] микрокалориметрическим методом было установлено, что энтальпия плавления коллагеновых фибрилл нативного типа, реконструируемых в прогреваемом растворе, не отличается от энтальпии денатурации макромолекул в изотропном растворе при кислых рН. Более того, степень изменения энтальпии денатурации от аминокислотного состава в пределах чувствительности калориметрического метода ( $10^{-6}$  Вт) оказалась одной и той же для фибрилл и растворов. Эти результаты показали, что обра-

зование коллагеновых фибрилл не сопровождается тепловым эффектом, если же он и имеется, то на два порядка меньше, чем энтальпия распада тройной спирали. Несмотря на правильность основного вывода цитируемой работы, в ней были допущены некоторые экспериментальные ошибки, касающиеся не только зависимости энтальпии плавления коллагеновых фибрилл от температуры плавления  $T_f$  коллагенов различного происхождения, но и энтальпии денатурации этих образцов от температуры денатурации. Менее крутая зависимость энтальпии денатурации от температуры денатурации (или от содержания 4-оксипролина) для изотропных растворов коллагена при кислых рН, обнаруженная нами недавно [1], заставила усомниться в правильности полученных ранее результатов [4], поэтому в настоящей работе мы снова обратились к изучению термодинамических параметров плавления фибрилл коллагенов различного происхождения.

### МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ

Исследования проводились на коллагенах кожи ледяной рыбы (*Trematomus* sp.), катрана (*Squalus aca-*

*tias*), лягушки (*Rana temporaria*), белых крыс и плавательного пузыря карпа (*Cyprinus carpio*), существенно

различающихся по содержанию иминокислот. Белок экстрагировали 0,5 М уксусной кислотой по методике, описанной ранее [6]. Концентрацию белка определяли по известным величинам удельной оптической активности [2]. Нативность препарата проверялась по величине отношения удельной оптической активности нативного коллагена к денатурированному и по степени кооперативности перехода спираль/клубок. Кривые плавления снимались на поляриметре «POLAMAT» (Karl Zeiss). Теплоты денатурации разбавленных растворов коллагена с концентрацией белка от 0,5 до

5 мг/мл, так же как и теплоту плавления коллагеновых фибрилл, образующихся в процессе равномерного прогрева раствора в калориметрической камере, определяли микрокалориметром ДАСМ-4 с рабочим объемом ячейки 0,474 см<sup>3</sup>. Процесс образования коллагеновых фибрилл контролировали спектрофотометром СФ-26 при 313 нм в термостатируемой кювете, температура в которой измерялась с помощью проволочного термометра сопротивления. Условия для получения фибрилл были такие же, как и в работе [5].

## РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

На рис. 1 представлена запись теплопоглощения при денатурации коллагена кожи крысы при pH 3,8 (кривая 2) и аналогичная кривая теплопоглощения для фибрилл нативного типа, выпадаемых в осадок в калориметрической камере в процессе про-

цественно отличается от кривых плавления коллагеновых фибрилл. Последние в ряде случаев имеют даже двухступенчатый вид, что явно указывает на гетерогенность исследуемого образца. Совершенно очевидно, что эта гетерогенность межмолекулярного характера и, как пока-

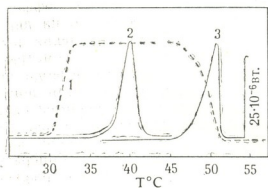


Рис. 1. Зависимость оптической плотности при 313 нм в прогреваемом растворе коллагена кожи крысы от температуры; 1, 2 и 3 — пики теплопоглощения в растворе и в состоянии фибрилл соответственно при pH 7,0 Трис (оксиметил) метил-2-аминоэтан фосфатный буфер

грева в том же буфере при pH 7,0 (кривая 3). Здесь же приведена кривая изменения оптической плотности для того же образца, свидетельствующая об образовании коллагеновых фибрилл в температурной области от 30 до 34°C и их распада в той же температурной области, в которой имеет место теплопоглощение (кривая 1). Характер кривых плавления изотропного раствора коллагена су-

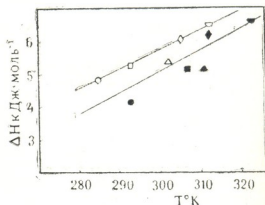


Рис. 2. Зависимость энтальпии денатурации от температуры денатурации коллагенов различного происхождения в растворе (светлые символы) и в фибриллах (тёмные символы): ○ — ледяная рыба, □ — катран, △ — лягушка, ◇ — карп, ● — крыса

зывают электронномикроскопические снимки коллагеновых фибрилл [3], может быть обусловлена различием в диаметре образуемых фибрилл. В температурной области фибрилlogenеза обнаружить какой-либо тепловой эффект, даже соизмеримый с чувствительностью калориметра ( $3 \cdot 10^{-6}$  Вт), не удается. На основании чего следует заключить, что образование коллагеновых фибрилл — атермиче-

ский процесс. Из табл. 1 видно, что независимо от происхождения коллагена энтальпия плавления фибрилл либо оказывается меньше, либо равной энтальпии денатурации коллагена и не в одном случае из 20 поставленных опытов не больше, чем энтальпия денатурации. Этот факт дает нам полное основание считать ошибочными все результаты, для которых  $\Delta_{\text{ф}}^{\text{H}} < \Delta_{\text{с}}^{\text{H}}$ , и не принимать их во внимание при дальнейшем анализе, так как заниженные значения, несомненно, являются следствием несистематизирующихся экспериментальных ошибок.

На рис. 2 приведены зависимости энтальпии денатурации коллагена и энтальпии плавления фибрилл от температуры денатурации и плавления соответственно. Из рисунка видно, что обе зависимости имеют один

и тот же характер, лишь с той разницей, что температура плавления коллагеновых фибрилл в среднем на  $8-10^{\circ}\text{C}$  выше температуры денатурации в растворе.

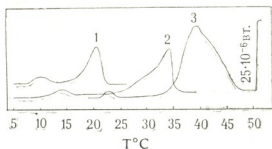


Рис. 3. Кривые теплопоглощения: 1 — ледяная рыба (pH 7,0, 0,43 М NaCl); 2 и 3 — катран и карп при pH 7,0, Трис (оксиметил) метил-2-аминоэтан фосфатный буфер

Таблица 1

Термодинамические параметры денатурации коллагенов различного происхождения в растворе и фибриллах

Коллаген	В растворе при pH 3,7			В фибриллах при pH 7,0			Условие опыта
	$\Delta_{\text{с}}^{\text{H}} (T_{\text{м}})$	$\Delta_{\text{с}}^{\text{S}} (T_{\text{м}})$	$T_{\text{м}}$	$\Delta_{\text{ф}}^{\text{H}} (T_{\text{ф}})$	$\Delta_{\text{ф}}^{\text{S}} (T_{\text{ф}})$	$T_{\text{ф}}$	
Ледяная рыба	4,85	17,0	286	4,01	13,7	293,6	0,8 М
				3,93			
				3,94			
Катран	5,33	18,2	293,6	5,17	16,82	307,2	Буфер
				4,79			
				4,69			
				4,51			
Лягушка	5,42	17,9	302,1	5,21	16,8	310,6	Буфер
				4,89			
				4,82			
Карп	6,15	20,15	305,1	6,26	20,0	312,1	Буфер
				5,79			
				5,71			
				5,60			
Крыса	6,48	20,8	312,1	6,60	20,4	324,14	Буфер
				6,57			
				6,22			

$T$  — К;  $\Delta\text{H}$  — кДж на моль аминокислотных остатков;  $\Delta\text{S}$  — Дж·К<sup>-1</sup> на моль аминокислотных остатков; средняя молекулярная масса аминокислотного остатка — 92,6



Более точное значение разности между температурой плавления фибрилл и температурой денатурации коллагена можно получить в одинаковых условиях опыта, поставив эксперимент таким образом, чтобы в прогреваемом растворе часть макромолекул не успела бы войти в реакцию фибриллогенеза. Это достигалось при высоких скоростях прогрева раствора (0,5°/мин и 0,25°/мин). При таких условиях кривая теплопоглощения имеет два максимума, соответственно относящихся к макромолекулам и фибриллам (рис. 3), но при этом как выяснилось разность температур между максимумами пиков не оказалась постоянной. Она колеблется от 10 до 20°С. Эти колебания зависят не только от происхождения коллагена, но и от низкомолекулярного компонента. Так например, в присутствии 0,1—0,4 М NaCl разность температур составляет 10—12°С, в то время как в буферной среде эта разность достигает и 20°С.

Какие могут быть причины столь значительного колебания разности температур? Этот вопрос требует более тщательного исследования. Попытаемся объяснить наблюдаемый факт, ограничиваясь визуальными наблюдениями над образцами коллагеновых фибрилл при спектрофотометрических исследованиях. Легко заметить, что в присутствии буферного раствора вместе с процессом фибриллогенеза

имеет место образование геля, в то время как только NaCl при нейтральных рН дает простой осадок. Следовательно, образующийся гель может вызвать дополнительное увеличение термостабильности коллагена, которое может зависеть от концентрации раствора. Об этом свидетельствует и тот факт, что в буферной среде форма кривой плавления существенно отличается от кривой, полученной в присутствии NaCl. Таким образом, образование сетки слабых связей, которые сами по себе не влияют на тепловой эффект денатурации, может оказать существенное влияние как на форму пика, так и на его расположение на температурной шкале.

Суммируя результаты калориметрических опытов, мы можем утверждать, что в пределах чувствительности микрокалориметрического метода ( $3 \cdot 10^{-5}$  Вт) теплота денатурации коллагена равна теплоте плавления коллагеновых фибрилл, а зависимость энтальпии денатурации различающихся по термостабильности коллагенов от температуры денатурации не отличается от аналогичной зависимости для фибрилл. Исходя из этого равенства совершенно очевидно, что увеличение температуры плавления фибрилл, по сравнению с температурой денатурации изолированных макромолекул, обусловлено энтропийным членом свободной энергии перехода фибрилла-клубок.

## ЛИТЕРАТУРА

1. Бурджанадзе Т. В., Тиктопуло Е. И., Привалов П. Л. ДАН 293, 3, 720—724, 1987.
2. Бурджанадзе Т. В. Вопросы биофизики и теоретической биологии, Труды ТГУ, 139, 1971, 17—23.
3. Мазуров В. И. Биохимия коллагеновых белков, «Медицина», М., 1974.
4. Монаселидзе Д. Р., Маджагаладзе Г. В., Бакрадзе Н. Г., Чанчалашвили З. И., Мжаванадзе А. В., Маруденко А. И. Конформационные изменения биополимеров в растворах, «Наука», М., 1973.
5. Gelman R. A., Pöppke D. C., Piez K. A. . Biol. Chem., 250, 11741—11745.
6. Glimcher M. J., Francois C. J., Richards L., Krane S. M. Biochim. Biophys. Acta, 93, 585—602, 1964.



# თერმოსტაბილურად განსხვავებული კოლაგენური ბოჭკოების ლღობის კალორიმეტრული გამოკვლევა

თ. ბურჯანაძე, მ. ბეჰიტაძე

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

რ ე ზ ი უ მ ე

წარმოშობის წარმოდგენილია ხსნარსა და ფიბრილარულ მდგომარეობაში თერმოსტაბილურად განსხვავებული კოლაგენების ღობის სიბრტყის კალორიმეტრული კვლევის შედეგები. ნაჩვენებია, რომ ხსნარში კოლაგენის დენატურაციის ენტალპია პრაქტიკულად კოლაგენური ფიბრილების ღობის სიბრტყის ტოლია. ხსნარსა და ფიბრილარულ მდგომარეობაში სხვადასხვა წარმოშობის კოლაგენებისა-

თვის დენატურაციის ტემპერატურისაგან დენატურაციის ენტალპიის დამოკიდებულების ხარისხი კვლევის მეთოდის ცდომილების ფარგლებში ერთნაირია და შესამჩნევად განსხვავდება ადრე მიღებული ანალოგიური დამოკიდებულებისაგან. მიღებული შედეგების საფუძველზე კეთდება დასკვნა იმის შესახებ, რომ კოლაგენური ფიბრილების წარმოქმნის თავისუფალ ენერგია ენტროპული ბუნებისაა.

## CALORIMETRIC STUDY OF MELTING OF DIFFERENT THERMOSTABILITY COLLAGEN FIBRILS OF NATIVE TYPE

T. V. BURJANADZE, M. O. BEZHITADZE,

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

### S u m m a r y

The results of calorimetric study of different thermostability collagen heat melting in solution and in the state of a fibril formed in the heat-treated solution are given. Collagen denaturation enthalpy in solution was shown to be almost equal to collagen fibril heat melting. The degree of the denaturation enthalpy dependence on denaturation

temperature for collagen of different origin in solution and in the state of fibril in the error limits was similar, and differed considerably from that obtained previously.

On the basis of data obtained it is concluded that free energy alteration followed by the process of collagen fibril formation is of entropic nature.

УДК 577.3

БИОФИЗИКА

## КВАНТОВОЕ РАССМОТРЕНИЕ КИНЕТИКИ ЭЛЕМЕНТАРНОГО АКТА НЕКОТОРЫХ МОДЕЛЬНЫХ БИОХИМИЧЕСКИХ РЕАКЦИЙ С ПЕРЕНОСОМ ЭЛЕКТРОНА

З. Д. Урушадзе

*Грузинский сельскохозяйственный институт, Тбилиси*

Поступила в редакцию 25.09.1986

Обсуждается физический механизм элементарного акта модельных химических и биохимических реакций с переносом электрона, протекающих как в полярных, так и неполярных средах. Сформулирована квантово-механическая модель неполярной среды. Описана качественная физическая картина протекания элементарного акта модельной биохимической реакции с переносом электрона при учете квази-прерывного характера электронного спектра макромолекулы фермента.

Для количественного анализа кинетических данных биохимических процессов обычно используются методы так называемой формальной кинетики, а для качественного анализа этих реакций — результаты различных квантово-химических расчетов электронной структуры реагентов, т. е. частиц, участвующих в реакции. Методы формальной кинетики оказываются плодотворными в случае относительно простых модельных систем, когда имеется возможность сопоставить надежные экспериментальные данные с кинетической схемой. Теория Михаэлиса-Ментен и дальнейшие ее модификации в этих случаях позволяют найти относительные скорости отдельных стадий биохимических (ферментативных) процессов. Следует однако отметить, что даже такие упрощенные системы требуют весьма сложного машинного расчета, не обеспечивая при этом выполнения одной из основных задач анализа данной системы — определения абсолютных значений скоростей отдельных стадий реакций, что является необходимым для изучения истинного физического механизма процесса.

Реальные биохимические превращения, учитывая их многостадийность и наложение влияния много-

численных побочных факторов (наличие активаторов, ингибиторов, изменение физиологических условий и т. д.), создают для изучения физического механизма элементарного акта биохимических реакций практически непреодолимые трудности. Что касается квантово-химических расчетов электронной структуры реагентов, то такие расчеты иногда дают возможность оценить относительную реакционную способность различных частиц, поскольку, зная электронные волновые функции, можно оценить характер их перекрывания, т. е. получить качественную характеристику скорости процесса. С другой стороны, знание энергетического спектра реагентов дает возможность оценить ряд термодинамических параметров реакции. Признавая всю ценность информации, представляемой квантовой химией, следует правильно оценить и ее ограниченность: 1. результаты квантово-химических расчетов дают возможность лишь качественного рассмотрения химических и биохимических превращений и не позволяют вычислять абсолютные значения констант скоростей реакций; 2. с помощью квантовой химии обычно рассматривают только электронный спектр реагентов, а колебатель-



ные спектры не рассчитывают; 3. в квантово-химическом подходе влияние среды на протекание химических и биохимических реакций учитывается, как правило, только статически.

Одной из основных причин, затрудняющих количественное изучение биохимических превращений, заключается в том, что не всегда ясна картина собственно элементарного акта процесса. Методами формальной кинетики нельзя решить эту задачу — элементарный акт химической реакции является квантовым процессом и прояснить его сущность может лишь квантовая теория. Методы квантовой химии также неспособны самостоятельно решить эту проблему, так как они апеллируют к статической картине — стационарным состояниям систем, в то время как для кинетики существенна динамическая картина.

Специфика биохимических процессов связана с тем, что по крайней мере один из реагентов является макромолекулой. Также, как и в обычных химических реакциях, часть макромолекулы (например, активный центр фермента) может претерпевать химические превращения с разрывом или образованием валентных связей, в то время как другая ее часть (например апофермент) может изменить лишь свою структуру, а в ряде случаев и частоты нормаль-

ных колебаний [1]. В виду того, что мы имеем дело с макромолекулярное изменение последнего фактически эквивалентно перестройке среды во время химической реакции.

На протекание биохимической реакции оказывают влияние как полярные, так и неполярные части среды — макромолекулы. Поскольку физическая природа влияния полярной среды известна [4, 5], то основная задача состоит в выяснении механизма влияния на реакцию неполярной части среды [1].

Вторая специфика биологических макромолекул, учитываемая в данной работе, состоит в том, что их электронный, а также колебательный спектры могут иметь квазинепрерывный характер. Поэтому в случае биохимических реакций существенный вклад в кинетику процесса могут дать несколько близко расположенных электронных уровней макромолекул.

В данной работе на основе квантово-механической теории кинетики элементарного акта химических реакций [4, 5, 7] обсуждается физический механизм элементарного акта, сформулирована квантово-механическая модель неполярной среды, описана качественная физическая картина протекания элементарного акта таких важных биохимических процессов, как реакции с переносом электрона.

## 1. ФИЗИЧЕСКИЙ МЕХАНИЗМ ЭЛЕМЕНТАРНОГО АКТА РЕАКЦИИ

Согласно квантово-механической теории химических реакций, движение вдоль различных степеней свободы, соответствующих как внутримолекулярному, так и межмолекулярному движению реагентов и частиц среды, может быть рассмотрено, либо как классическое, т. е. надбарьерное, либо как квантовое, т. е. подбарьерное (туннельное). В соответствии с этим, в случае классического перехода системы, вероятность перехода будет зависеть от температуры аррениусовским образом, т. е.

$$W \sim e^{-\frac{\Delta F^*}{kT}},$$

где  $\Delta F^*$  — свободная энергия активации.

В случае же квантового перехода вероятность перехода от температуры практически не зависит и эти флуктуации вносят вклад лишь в предэкспоненциальный множитель.

Точный критерий квантовости или классичности движения для произвольного профиля потенциальной энергии имеет довольно сложный вид, поэтому ниже мы приводим условие «квантовости» и «классичности», полученное в гармоническом приближении:  $\hbar\omega \gg kT$  — условие квантовости,  $\hbar\omega \ll kT$  — условие классичности ( $\omega$  — частота колебания вдоль данной степени свободы) [4].

Для расчета вероятности элементарного акта все степени свободы как реагентов, так и частиц среды,



следует разбить на квантовые и классические группы. Для протекающей реакции, согласно обобщенному принципу Франка-Кондона, необходимо равенство энергетических уровней в начальном и конечном состояниях. В ходе реакции флуктуации классических степеней свободы обеспечиваются выравнивание энергетических уровней. При этом активация процесса состоит в флуктуа-

ции классической подсистемы из равновесного начального состояния до седловой точки, и энергия активации определяется как расстояние между минимумом начального терма и седловой точкой. Предэкспоненциальный же фактор в основном определяется перекрытием волновых функций квантовой подсистемы в переходном состоянии [5].

## II. КВАНТОВО-МЕХАНИЧЕСКАЯ МОДЕЛЬ НЕПОЛЯРНОЙ СРЕДЫ

На протекание биохимической реакции существенное влияние оказывает среда. Для учета этого влияния в случае ионных и ион-дипольных реакций предложен ряд схем, основанных на теории абсолютных скоростей реакций [5], которая по существу является «газовой». В этих работах вакуум тем или иным способом заменяется на континуальную среду, характеризующую макроскопическим значением статической диэлектрической проницаемости  $\epsilon_s$ , отличным от единицы, и все изменения в константах скорости реакции выражаются через этот параметр. Между тем в ходе реакции изменяется и состояние среды и, наоборот, изменение состояния среды изменяет и электронную конфигурацию частиц. Динамическая роль среды количественно учитывается в общей квантово-механической теории кинетики элементарного акта химических реакций, протекающих в полярной жидкости [4, 5].

Для учета влияния полярной среды можно воспользоваться диэлектрическим формализмом [4], согласно которому среду можно описать гамильтонианом набора осцилляторов (поляризационные фононы), частоты которых определяются из условия  $Im \epsilon_{\text{эф}}(\vec{k}, \vec{k}', \omega) = 0$ , где  $\epsilon_{\text{эф}}$  — тензор комплексной диэлектрической проницаемости (наличие двух волновых векторов  $\vec{k}$  и  $\vec{k}'$  связано с возможной неоднородностью среды).

При описании неполярной части среды необходимо учесть колебания двух типов: 1. Колебания плотности макромолекулы (акустическая ветвь) 2. Деформационные колебания относительно больших фрагментов макромолекулы (локальные колебания).

Акустические фононы, также как и поляризационные, в рамках линейной теории описываются гамильтонианом набора гармонических осцилляторов, частоты которых можно найти из опытов по поглощению звука. Вид гамильтониана, соответствующего деформационным колебаниям, существенно зависит от конкретного вида макромолекулы. Для простоты мы будем предполагать, что эти колебания также имеют гармонический характер.

В самом общем виде гамильтониан полярной среды можно записать в виде [4]

$$H_s = \frac{1}{2} \sum_x \left( \omega_x^2 \eta_x^2 - \hbar^2 \frac{\partial^2}{\partial \eta_x^2} \right), \quad (1)$$

где  $\eta_x$  — нормальные координаты, связанные с поляризационным состоянием среды, а  $\omega_x$  совпадают с характерными частотами, на которых происходит интенсивное поглощение продольных электромагнитных волн в данной среде. Необходимо отметить, что как нормальные координаты  $\eta_x$ , так и частоты нормальных колебаний  $\omega_x$  могут существенно зависеть от конформационного состояния макромолекулы [1].

В линейном приближении для взаимодействия статически распределенных зарядов с поляризацией можно использовать выражение вида:

$$V_{rs} = -\vec{p}(\vec{r}) \vec{D}(\vec{r}) \vec{d}, \quad (2)$$

где  $\vec{P}(\vec{r})$  — вектор поляризации, а  $\vec{D}(\vec{r})$  — вектор электрической индукции, создаваемой внесенным в среду ионом. При переходе от поляризаций к нормальным координатам  $\eta_x$  фор-

мула [2] запишется следующим образом [4]:

$$V_{rs} = \sum_{\kappa} \gamma_{\kappa} \eta_{\kappa}. \quad (3)$$

Здесь  $\gamma_{\kappa}$  имеет смысл силовой константы взаимодействия электрона со средой.

Значительно более сложная задача найти вид гамильтониана растворителя  $H_s$  для неполярных сред. Мы предполагаем, что  $H_s$  и  $V_{rs}$  — взаимодействие частиц со средой могут быть рассмотрены в рамках линейной теории, т. е. предполагаем, что формулы (1) и (3) справедливы и в этом случае, причем параметры  $\omega_{\kappa}$  и  $\gamma_{\kappa}$  имеют характер феноменологических параметров теории. В ряде случаев, вероятно, их можно связать с параметрами среды, определяющими распространение акустических (звуковых) волн в среде [2]. Указанное обстоятельство удобно проиллюстрировать на примере ферментативных окислительно-восстановительных реакций. При образовании фермент-субстратного комплекса молекула субстрата входит в некоторую полость в макромолекуле фермента и оказывается в окружении белковой части фермента. Это означает, что фермент является не только реагентом, но и специфической средой реакции. Перуцц полагает [8], что именно изменение этой среды, характеризующее, в частности, резким уменьшением диэлектрической проницаемости в первую очередь ответственно за ускорение реакции. Как показывает простое рассмотрение, характер влияния неполярной (белковой) среды на протекание реакции, например, электронного переноса, в принципе имеет такой же характер, как и в случае полярной среды. Отличие заключается в том, что, если в случае полярной среды на протекание реакции влияет флуктуация поляризации, то в случае неполярной среды аналогичное воздействие могут оказать связанные с акустическими волнами плотности среды конформационные изменения молекул среды. Действительно, активный центр фермента соединен с белком  $\sigma$ -связями и электроны не делокализованы по белку. Если в активный центр входит кофактор — кофермент,

простетическая группа (обычно это молекула с делокализованными электронами, перестраивающимися в ходе реакции) или ион переходного металла, то конформационные изменения, т. е. деформации белковой части фермента (апофермента) могут передаваться прочными  $\sigma$ -связями кофактору, деформируя его структуру. В результате положение энергетических уровней, участвующих в реакции электронов, будет изменяться в зависимости от динамического состояния апофермента, обеспечивая, аналогично полярной среде, выполнение условий, описываемых принципом Франка-Кондона. При этом энергии соответствующих электронных уровней окисляемой и восстанавливаемой молекул будут функциями некоторых обобщенных координат  $\eta_{\kappa}$ , характеризующих динамическое поведение конфигурации апофермента. Предположив, как это отмечалось выше, что динамическое поведение неполярной среды также может быть описано в гармоническом приближении, эквивалентном учету акустических колебаний плотности среды, гамильтониан  $H_s$  неполярной среды будет иметь вид аналогичный формуле [1]:

$$H_s = \frac{1}{2} \sum_{\kappa} \left[ \omega_{\kappa}^2 (\eta_{\kappa} - \eta_{\kappa 0})^2 - \hbar^2 \frac{\partial^2}{\partial \eta_{\kappa}^2} \right] + I, \quad (4)$$

где  $\omega_{\kappa}$  и  $\eta_{\kappa}$  — частоты и координаты нормальных колебаний среды;  $\eta_{\kappa 0}$  — соответствующие равновесные координаты;  $I$  — минимальная потенциальная энергия (или свободная энергия) системы. Учитывая, что для неполярной среды, например для апофермента, может существовать несколько равновесных конфигураций (конформаций), припишем частотам  $\omega_{\kappa}$ , координатам  $\eta_{\kappa}$  и  $\eta_{\kappa 0}$  и величине  $I$  индекс  $\alpha$ , нумерующий различные конформационные состояния. Необходимо учесть также, что различным электронным состояниям активного центра соответствуют разные равновесные координаты. Следовательно, в общем случае, равновесные конфигурации среды (фермента) будут характеризоваться, во-первых, конформационными состояниями апофермента (или всего фермента) —  $\alpha$  и,

во-вторых, различными электронными состояниями ( $v$ ) активного центра. Соответственно, гамильтониан, описывающий состояние среды, можно записать в виде:

$$H_s = \frac{1}{2} \sum \left[ (\omega_{\nu}^{\alpha, v})^2 (\eta_{\nu}^{\alpha, v} - \eta_{\nu 0}^{\alpha, v})^2 - h^2 \frac{\partial^2}{\partial \eta_{\nu}^2} \right] + I^{\alpha, v}, \quad (5)$$

где в явном виде учтена зависимость нормальных и равновесных координат и нормальных частот среды от конформационного и электронного состояний.

Мы учитывали изменение равновесных координат в активном центре. Однако в ряде задач существенными могут оказаться и динамические колебания координат активного центра вблизи равновесных значений. В этом случае в формулу [3] нужно включить соответствующий колебательный гамильтониан.

Внешнесферная модель протекания реакций, использованная в данной работе, довольно точно описывает ферментативные окислительно-восстановительные реакции с переносом электрона. Можно предполагать, что при переносе электрона происходит изменение лишь равновесных нормальных координат среды без изменения соответствующих частот коле-

баний. Последнее предположение для полярных сред было обосновано в работе [5]. Если реакция протекает в неполярной среде, то это предположение легко обосновать для случая, когда роль среды играет белок (апофермент), приняв, что при изменении числа электронов в коферменте в белковой части фермента практически не происходят изменения силовых постоянных. Объединяя формулы (5) и (3), получаем:

$$H_s + V_{es} = \frac{1}{2} \sum_{\nu} \left[ \omega_{\nu}^2 (\eta_{\nu} - \eta_{\nu 0}^{\alpha, v})^2 - h^2 \frac{\partial^2}{\partial \eta_{\nu}^2} \right] - \frac{1}{2} \sum_{\nu} \omega_{\nu}^2 (\eta_{\nu 0}^{\alpha, v})^2 + I^{\alpha, v}, \quad (6)$$

где,  $\eta_{\nu 0}^{\alpha, v} = -\frac{v_{\nu}^{\alpha, v}}{\omega_{\nu}^2}$  представляет собой

равновесную нормальную координату, обусловленную взаимодействием электрона со средой. Поскольку в ходе реакции состояние электрона меняется, то изменяется и  $\eta_{\nu}^{\alpha, v}$ . Относительно величины  $\eta_{\nu}$  следует заметить, что хотя она может зависеть от электронного состояния данной частицы, т. е. от квантовых чисел  $v$  и  $v'$ , однако из общих физических соображений ясно [4], что эта зависимость очень слабая.

### III. МОДЕЛЬНЫЕ БИОХИМИЧЕСКИЕ ПРОЦЕССЫ ЭЛЕКТРОННОГО ПЕРЕНОСА

Для пояснения физической природы влияния акустических колебаний рассмотрим окислительно-восстановительную реакцию с переносом электрона. В макромолекуле типа молекулы цитохрома-С протестическая группа (гем) связана с апоферментом  $\sigma$ -связями. Акустические колебания плотности апофермента через эти жесткие связи могут передаваться на гемовую группу, деформировать ее пространственную структуру и изменять этим энергии делокализованных  $\pi$ -электронов гемовой группы, обеспечивая выполнение условий, требуемых принципом Франка-Кондона, т. е. выравнивание электронных уровней протестической группы и субстрата.

Естественно, что физический механизм влияния неполярной части среды на модельные биохимические реакции, поясненный на примере реакции электронного переноса, можно распространить и на другие типы реакций.

Для простоты рассмотрим так называемый внешнесферный механизм реакции электронного переноса. В этом случае в квантовую подсистему входит лишь электрон, а в классическую подсистему — осцилляторы среды, удовлетворяющие условию  $\hbar\omega \ll kT$ . Если в элементарном акте участвует макромолекула, следует учесть, что как в начальном, так и конечном состояниях может существовать группа близко расположенных термов.

Физически различные термы могут соответствовать различным возбужденным состояниям электронной подсистемы.

Для случая перехода электрона с дискретного уровня субстрата на уровни макромолекулы вероятность перехода в единицу времени можно записать в виде [4, 5, 6]:

$$W = \sum_{\alpha} W(\epsilon_{\alpha}) [1 - n(\epsilon_{\alpha})], \quad (7)$$

где  $\alpha$  — номер электронных уровней конечного состояния,  $W(\epsilon_{\alpha})$  — вероятность перехода электрона с дискретного уровня на  $\alpha$ -й электронный уровень конечного состояния:

$$W(\epsilon_{\alpha}) = \kappa(\epsilon_{\alpha}) \frac{\omega_{эфф}}{2\pi} \exp \left\{ -\frac{(E_s^{\alpha} + \Delta I_{\alpha})^2}{4E_s^{\alpha} kT} \right\} \quad (8)$$

здесь  $\kappa(\epsilon_{\alpha})$  и  $\Delta I_{\alpha}$  — трансмиссионный коэффициент и тепловой эффект реакции;  $\omega_{эфф}$  — эффективная частота флуктуации тех степеней свободы среды, которые обеспечивают выполнение принципа Франка-Кондона,  $E_s^{\alpha}$  — энергия реорганизации среды (работа, необходимая для того, чтобы изменить координаты среды от равновесных начальных значений до равновесных конечных значений при неизменном состоянии квантовой подсистемы, т. е. оставаясь на начальном терме [4]).

$n(\epsilon_{\alpha})$  — вероятность того, что уровень  $\epsilon_{\alpha}$  является занятым — задается фермиевской функцией распределения электронов:

$$n(\epsilon_{\alpha}) = \left[ \exp \left( \frac{\epsilon_{\alpha} - \epsilon_F}{kT} \right) + 1 \right]^{-1}, \quad (9)$$

где  $\epsilon_F$  — уровень Ферми.

## ЛИТЕРАТУРА

1. Волькенштейн М. В., Догонадзе Р. Р., Мадумаров А. К., Урушадзе З. Д., Харкац Ю. И. Мол. биол., 6, 3, 431—439, 1972.
2. Волькенштейн М. В. Физика ферментов, «Наука», М., 1967.
3. Глестон С., Лейдлер К., Эйринг Г. Теория абсолютных скоростей реакций, М., 1948.
4. Догонадзе Р. Р., Кузнецов А. М. Итоги науки, Электрохимия, ВИНТИ, М., 1970.
5. Догонадзе Р. Р., Кузнецов А. М. Итоги науки, физ. химия, 2, ВИНТИ, М., 1973.
6. Урушадзе З. Д. Сообщения АН ГССР, 61, 3, 681—684, 1971.
7. Dogonadze R. R., Chonishvili G. R., Marsagishvili T. A., J. Chem. Soc. Faraday Trans., 2, 80, 355—364, 1984.
8. Perutz M., Proc. Roy. Soc., 167, 448—451, 1967.

Из формулы (7) вытекает критерий квазинепрерывности электронного спектра, эквивалентный условию преобразования суммы (по  $\alpha$ ) в интеграл.

Множитель  $[1 - n(\epsilon_{\alpha})]$  в (7) существенно изменяется в интервале  $kT$ , а  $W(\epsilon_{\alpha})$  — в интервале  $2\sqrt{E_s^{\alpha} kT}$ . Поэтому условием замены суммы на интеграл является:  $\Delta E < kT$ , где  $\Delta E$  — расстояние между электронными термами. Однако это условие, хотя и достаточно, но не необходимо и в ряде случаев оно смягчается. Действительно, если максимальный вклад в сумму дают термы, соответствующие  $|\epsilon_{\alpha}^* - \epsilon_F| \gg kT$ , то в этом случае величиной  $n(\epsilon_{\alpha})$  можно пренебречь, и условием замены суммы на интеграл (критерием квазинепрерывности электронного спектра) окажется:  $\Delta \epsilon < 2\sqrt{E_s^{\alpha} kT}$ .

Как показывают оценки, величина  $E_s$  в случае простых реакций в полярных средах достаточно велика (1—2 эВ). Поэтому величина  $2\sqrt{E_s^{\alpha} kT}$  при комнатной температуре составляет 0,4—0,5 эВ, что значительно превосходит  $kT = 0,025$  эВ.

Вычисление интеграла существенно зависит от того, какого типа спектр предполагается у макромолекулы. Варианты могут быть разные. Например, спектр металлического типа, т. е. случай, когда уровень Ферми попадает в квазинепрерывную зону, а ширина всей этой зоны превышает  $2\sqrt{E_s^{\alpha} kT}$ .

ელექტრონის ვადატანით მიმდინარე ზოგიერთი მოდელური  
ბიოქიმიური რეაქციის ელემენტარული აქტის კვანტურ-  
მექანიკური განხილვა

ზ. ურუშაძე

საქართველოს სასოფლო-სამეურნეო ინსტიტუტი, თბილისი

რ ე ზ ი მ ე

განხილულია პოლარულ და არაპოლარულ გარემოში ელექტრონის ვადატანით მიმდინარე ქიმიური და ბიოქიმიური რეაქციების ელემენტარული აქტის ფიზიკური მექანიზმი. მოცემულია არაპოლარული გარემოს კვანტურ-მექანიკური მოდე-

ლი. აღწერილია ელექტრონის ვადატანით მიმდინარე მოდელური ბიოქიმიური რეაქციის ელემენტარული აქტის თვისობრივი ფიზიკური სურათი ფერმენტის მაკრომოლეკულის ელექტრონული სპექტრის კვაზიუწყვეტი ხასიათის გათვალისწინებით.

### QUANTUM CONSIDERATION OF KINETICS OF SOME MODEL BIOCHEMICAL ELECTRON TRANSFER REACTIONS ELEMENTARY ACT

Z. D. URUSHADZE

Georgian Agricultural Institute, Tbilisi, USSR

#### S u m m a r y

Physical mechanisms of elementary acts of the model chemical and biochemical electron transfer reactions taking place in a polar as well as nonpolar media are discussed. The quantum-mechanical model of a nonpolar medium is for-

mulated. The qualitative physical situation of the elementary act of the model biochemical electron transfer reaction with enzymes quasicontinual electronic spectrum calculation is described.



УКАЗАТЕЛЬ АВТОРОВ ТРИНАДЦАТОГО ТОМА

**А**

- Абашидзе М. Л. — № 2, 97  
Абутидзе К. Д. — № 1, 62  
Адамия Р. Ш. — № 5, 328  
Аладашвили В. А. — № 2, 97  
Алашвили Т. О. — № 6, 384  
Андриадзе Л. И. — № 6, 390  
Анели Н. Д. — № 1, 66  
Апридонидзе К. Г. — № 3, 172

**Б**

- Баазов Д. И. — № 1, 93  
Баканидзе Л. Г. — № 1, 38  
Бакурадзе Н. А. — № 6, 380  
Бахуташвили А. В. — № 4, 283  
Беберашвили Т. Р. — № 1, 46  
Бежитадзе М. О. — № 6, 419  
Бежуашвили М. Г. — № 4, 254  
Беридзе Р. Н. — № 4, 287  
Бурджанадзе Т. В. — № 6, 419  
Бурчуладзе М. Г. — № 1, 46  
Быковский А. Ф. — № 1, 38

**В**

- Варазашвили М. Н. — № 3, 161  
Вачнадзе В. Ю. — № 1, 66  
Вашакидзе Р. В. — № 5, 328  
Восканян Н. А. — № 1, 42  
Высочек Л. М. — № 1, 46; № 2, 135

**Г**

- Габуния В. Д. — № 6, 406  
Габуния Л. К. — № 5, 293; № 6, 406  
Гаришвили Г. Г. — № 1, 62  
Гваладзе Г. Е. — № 1, 15  
Гветадзе Л. Б. — № 5, 301; № 6, 365  
Гвишиани З. Г. — № 5, 357  
Гедеванишвили Г. И. — № 1, 46  
Георгадзе И. И. — № 2, 108; № 3, 208  
Гершкович Э. И. — № 6, 384  
Геташвили Г. Р. — № 2, 135  
Гиоргадзе Т. А. — № 2, 88  
Гогелия А. И. — № 4, 263  
Гогичадзе М. В. — № 5, 301  
Гонгадзе Н. И. — № 1, 51  
Гомартели М. М. — № 4, 236  
Гордезиани М. Ш. — № 3, 177

**Д**

- Дадияни Т. Н. — № 2, 77; № 3, 168  
Данелия Д. С. — № 5, 309  
Дараселия Г. А. — № 2, 103  
Джагаров, Д. Э. — № 5, 357  
Джангулашвили Н. Д. — № 4, 263  
Джаникашвили М. И. — № 1, 70  
Джариашвили Т. Л. — № 3, 187  
Джинория К. Ш. — № 2, 125  
Дзамашвили М. М. — № 4, 263  
Долидзе М. Г. — № 1, 51  
Долидзе М. Л. — № 5, 328

**Е**

- Егизарова А. Р. — № 5, 346  
Ефимов М. Б. — № 3, 200

**Ж**

- Жвания М. Г. — № 4, 230

**З**

- Заалишвили М. М. — № 1, 46; 51; № 2,  
135  
Зурабашвили З. А. — № 6, 380

**К**

- Каландадзе Н. Г. — № 6, 416  
Каличава Л. Х. — № 2, 108  
Канделаки М. Т. — № 1, 51  
Канделаки Р. А. — № 2, 82  
Канчавели Л. Т. — № 4, 258  
Капанадзе Р. В. — № 4, 270  
Карсанов Н. В. — № 4, 270; № 5, 357;  
№ 6, 401  
Картвелишвили Л. Г. — № 1, 34  
Кашитадзе А. Г. — № 6, 412  
Качабава Л. А. — № 2, 140  
Кезели Т. А. — № 1, 21  
Кекелидзе Н. А. — № 1, 70  
Киласония — № 2, 113  
Кинтрая П. Я. — № 4, 266  
Кипиани В. А. — № 4, 280  
Кобаидзе К. А. — № 4, 283  
Кобаладзе А. С. — № 2, 97  
Кобаснидзе Э. Я. — № 1, 15  
Козлов А. А. — № 3, 149  
Кокая З. Г. — № 3, 155; № 4, 221  
Кокая М. Г. — № 3, 155; № 4, 221  
Кометнани З. П. — № 3, 187; № 5, 315;  
№ 6, 396



Ковичек И. — № 2, 103  
 Ковичкова-Радохова М. — № 2, 103  
 Копалиани М. Ш. — № 3, 172  
 Корсантия Б. М. — № 4, 266  
 Котаева Д. В. — № 1, 21  
 Куликова А. Т. — № 4, 236  
 Куталия К. Д. — № 5, 315

**Л**

Лабакхау Т. Ш. — № 3, 155; № 4, 221  
 Литвинов А. И. — № 5, 320

**М**

Мамардашвили Н. Г. — № 4, 254  
 Мамулашвили Н. А. — № 5, 328  
 Манджавидзе Ш. Д. — № 5, 301; № 6, 365

Махатадзе И. К. — № 2, 108  
 Махатадзе Н. И. № 6, 416  
 Мегрелишвили Ц. Г. — № 4, 263  
 Меунаргия В. В. — № 6, 416  
 Мешвелиани Д. К. — № 5, 328  
 Микеладзе Д. Г. — № 1, 62  
 Минеев И. Ф. — № 6, 384  
 Моргилевская И. Е. — № 1, 21  
 Мосиашвили Г. И. — № 4, 254  
 Муджири Л. А. — № 4, 254  
 Мchedlishvili Г. И. — № 3, 161

**Н**

Надарейшвили К. Ш. — № 2, 119; № 5, 346  
 Наназашвили М. Г. — № 4, 283

**О**

Окуджава В. М. — № 3, 155; № 4, 221  
 Ониани Д. А. — № 2, 131; № 5, 352  
 Ониани Н. Т. — № 1, 5  
 Ониани Т. Н. — № 5, 301; № 6, 365  
 Ормоцадзе Л. Г. — № 4, 230

**П**

Пагава К. И. — № 6, 384  
 Патарая М. С. — № 4, 254  
 Пивоваров А. П. — № 6, 372  
 Пиросманишвили М. А. — № 4, 263  
 Пирцхелани А. Г. — № 4, 266  
 Прангишвили Д. А. № 1, 57; № 2, 140

**Р**

Рекк Н. Г. — № 3, 193  
 Рихиладзе Г. И. — № 2, 97

**С**

Саганелидзе Г. Н. — № 6, 372  
 Санадзе Г. А. — № 2, 93; № 5, 320

Саная Т. В. — № 3, 212; № 5, 346  
 Сесинашвили И. И. — № 3, 208  
 Стуруа М. Г. — № 1, 46  
 Сухлик Л. — № 4, 242  
 Сукнидзе Ц. Г. — № 4, 225  
 Схиладзе Н. Р. — № 1, 65

**Т**

Таралашвили Н. Н. — № 4, 287  
 Татаришвили А. Н. — № 1, 70  
 Тевдорадзе В. В. — № 2, 119  
 Тимошук И. И. — № 5, 339  
 Тоидзе Н. Ш. № 4, 263  
 Тотибадзе Н. И. — № 2, 82  
 Турманаули Г. С. — № 6, 401

**У**

Урушадзе З. Д. — № 6, 424

**Ф**

Фритш Р. — № 4, 287  
 Фурман В. Я. — 1, 46

**Х**

Хаиндрава Н. К. — № 4, 270  
 Ханельт П. — № 4, 287

**Ц**

Цакадзе Л. Г. — № 3, 187; № 5, 315; № 6, 396  
 Церетели А. К. — № 4, 236  
 Цыლოსани М. З. — № 2, 135  
 Цитландадзе Г. В. — № 1, 46  
 Цкпуришвили Д. Г. — № 1, 28  
 Цкитишвили З. М. — № 4, 236

**Ч**

Чанишвили Т. Г. — № 3, 208; № 5, 328  
 Челидзе Л. Т. — № 4, 248  
 Чигогидзе Н. Ш. — № 2, 108  
 Чинчаладзе Д. З. — № 1, 57; № 2, 140  
 Чхиквадзе В. М. — № 3, 200  
 Чхубианишвили Е. И. — № 1, 21

**Ш**

Шатилова И. И. — № 4, 242  
 Шелия Г. П. — № 4, 266  
 Шибут В. П. — № 2, 131; № 5, 352  
 Школьный А. Т. — № 4, 236  
 Шрайбман Ф. О. — № 1, 46

**Я**

Яздовский В. В. — № 6, 416  
 Яровая Е. В. — № 6, 401



## К СВЕДЕНИЮ АВТОРОВ

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

10. **Корректуры статей** даются авторам для проверки, правки и визирования. Изменения и дополнения в тексте корректур не допускаются, за исключением исправления ошибок и 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.

Утверждено Президиумом Академии наук ГССР 14.02.1974

698/23

Цена 85 коп.

Индекс 76204

100-2