

784-3/2  
989



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

# ბიოლოგიის

სერია  
СЕРИЯ

# БИОЛОГИЧЕСКАЯ

1989 N3 · თბილისი · ტომი  
TBILISI · TOM

# 15

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



საქართველოს სსრ მეცნიერებათა აკადემიის მეცნი  
 (Сакартвелოს ССР მეცნიერებათა აკადემიის მეცნი,  
 ბიოლოგიის სერია)  
 ИЗВЕСТИЯ АКАДЕМИИ НАУК ГРУЗИНСКОЙ ССР

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

ტომი 15, № 3  
 Том

ჟურნალი დაარსებულია 1975 წლის იანვარში  
 Журнал основан в январе 1975 года  
 გამოდის წელიწადში 6-ჯერ  
 Выходит 6 раз в год

**სარედაქციო კოლეგია:**

მთავარი რედაქტორი **ვ. ოკუჯავა**

მთავარი რედაქტორის მოადგილე **თ. ონიანი**

სწავლული მდივანი **გ. ბეკაია**

ლ. გაბუნია, ს. დურმიშიძე, მ. ზაალიშვილი, გ. თუმანიშვილი, გ. კანდელაკი,  
კ. ნადარეიშვილი, გ. ნახუცრიშვილი, გ. სანაძე, ბ. ყურაშვილი, თ. ჭანიშვილი,  
ნ. ჯავახიშვილი

პასუხისმგებელი მდივანი **ს. ლაბაძე**

**РЕДАКЦИОННАЯ КОЛЛЕГИЯ:**

Главный редактор **В. М. Окуджава**

Зам. главного редактора **Т. Н. Ониани**

Ученый секретарь **Г. Л. Бекаия**

Л. К. Габуня, Н. А. Джавахишвили, С. В. Дурмишидзе, М. М. Заалишвили, Г. В.  
Канделаки, Б. Е. Курашвили, К. Ш. Надарейшвили, Г. Ш. Нахуцришвили, Г. А.  
Санадзе, Г. Д. Туманишвили, 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, B. E. Kurashvili,**

**K. Sh. Nadareishvili, G. Sh. Nakhutsrishvili,**

**G. A. Sanadze, G. D. Tumanishvili, M. M. Zaalishvili**

Executive Secretary **S. R. Labadze**

რედაქციის მისამართი:

380060, თბილისი-60, კუტუზოვის ქ. 19,

ტელ. 37-86-78

Адрес редакции:

380060, Тбилиси-60, ул. Кутузова, 19,

тел. 37-86-78



СОДЕРЖАНИЕ—შიხასარსი—CONTENTS

3. В. Самадашвили, Г. Р. Давлианидзе, М. Л. Гугушвили. Взаимодействие каллозальных антидромных ответов коры с ответами, регистрируемыми на стимуляцию некоторых ядер таламуса . . . 149
- ზ. სამადაშვილი, გ. დავლიანიძე, მ. გუგუშვილი. ქერქის კალოზალური ანტიდრომული პასუხების ურთიერთობა თალამუსის ზოგიერთი ბირთვის გალზიანებით გამოწვეულ პასუხებთან
- Z. V. Samadashvili, G. R. Davlianidze, M. L. Gugushvili. The interaction of callosal antidromic cortical responses and those evoked by stimulation of some thalamic nuclei
- Ц. Я. Жгенти. Гистологическая и цитологическая диагностика реактивной почечной патологии частично гепатэктомизированных крыс . . . 156
- ც. ჯღენტი. თირკმლის რეაქტიული პათოლოგიის ჰისტოლოგიური და ციტოლოგიური დიაგნოსტიკა ნაწილობრივ პეპატექტომირებულ ვირთაგვებში.
- Ts. I. Zhgenti. Histological and cytological diagnosis of renal reactive pathology in partially hepatectomized rats
- Д. Д. Кордзая. Некоторые особенности архитектоники систем выводных протоков, кровеносного и лимфоносного русел поджелудочной железы, выявленные сканирующей электронной микроскопией их инъекционных реплик . . . 162
- დ. კორძაია. კუჭქვეშა ჭირკვლის გამომტანი სადინარების, სისხლისა და ლიმფის მილების სისტემათა არქიტექტონიკის ზოგიერთი თავისებურებანი, გამოვლენილი მათი ინექციური რეპლიკების მასკანირებელი ელექტრონული მიკროსკოპიით
- D. J. Kordzaia. Some peculiarities of the architectonics of pancreatic excretory ducts, blood and lymphatic vessels revealed by means of their injection replicas of scanning electron microscopy
- Н. К. Тотибадзе, Н. И. Белоиваненко. Ретроградное перерождение нейронов ядер мозжечка после перевязки мозолистого тела . . . 167
- ნ. კოთიბაძე, ნ. ბელოივანენკო. ნათხმის ბირთვების ნეირონების რეტროგრადული გადაგვარება კორძიანი სხეულის გადაჭრის შემდეგ
- N. K. Totibadze, N. I. Beloivanenko. Retrograde degeneration of the cerebellar neurons following the section of the corpus callosum
- Г. И. Кикнадзе, И. Л. Лазриев, Э. И. Дзамоева. Влияние фармакологической депривации парадоксальной фазы сна на ультраструктуру септума кошки . . . 173
- გ. კიკნაძე, ი. ლაზრიევი, ე. ძამოევა. პარადოქსული ძილის ფარმაკოლოგიური დეპრევიაციის გავლენა კატის თავის ტვინის სეპტალური ბირთვების ულტრასტრუქტურაზე
- G. I. Kiknadze, I. L. Lazriev, D. I. Dzamoeva. The effect of pharmacological deprivation of REM sleep on the ultrastructure of cat's septal nuclei
- Л. В. Мухелишвили. Аденилатциклаза в секреторных и миоэпителиальных клетках околоушной железы (электронно-цитохимическое исследование) . . . 178
- ლ. მუსხელიშვილი. ადენილატციკლაზა ყბაყურა ჭირკვლის სეკრეტორულ და მიოეპითელურ უჯრედებში (ელექტრონულ-ციტოქიმიური გამოკვლევა).
- L. V. Muskhelishvili. Adenylate cyclase in the secretory and myoepithelial cells of parotid gland (electron-cytochemical study)

Г. Г. Бочоришвили. Экспериментальное моделирование овариоварикоцеле  
 გ. ბოჭორიშვილი. ოვარიოვარიოციელეს ექსპერიმენტული მოდელარების საკითხისათვის

G. G. Bochorishvili. Experimental modelling of ovaricovariocele

Э. Г. Квеситадзе, Т. В. Ломиташвили. Минорный термостабильный компонент целлюлозного комплекса Trichoderma reesei 188  
 ე. კვესიტაძე, თ. ლომიტაშვილი. Trichoderma reesei-ის ცელულაზური კომპლექსის მინორული თერმომედეგი კომპონენტი

E. G. Kvesitadze, T. V. Lomitashvili. Thermostable minor component of Trichoderma reesei

Л. И. Русия, К. Ш. Куридзе, Н. Н. Бокочадзе, М. Ш. Симонидзе, М. М. Заалишвили. Исследование структурной организации α-актинина бифункциональными реагентами 195  
 ლ. რუსია, კ. ქურიძე, ნ. ბოკოჩაძე, მ. სიმონიძე, მ. ზაალიშვილი, ა. აქტინინის სტრუქტურული ორგანიზაციის შესწავლა ბიფუნქციური რეაგენტებით

L. U. Rusia, K. Sh. Kuridze, N. N. Bockochadze, M. Sh. Simonidze, M. M. Zaalishvili. Investigation of structural organization of α-actinin using bifunctional reagents

И. В. Джanelидзе, В. Д. Бабухадиа. Фармакокинетика эндолимфатически введенного гентамицина в мочеполовых органах собаки 200  
 ი. ჯანელიძე, ვ. ბაბუხადია. ენდოლიმფურალ შეყვანილი გენტამიცინის ფარმაკოკინეტიკა ძაღლის შარდსასქესო ორგანოებში

I. V. Janelidze, V. D. Babukhadia. Pharmacokinetics of endolymphatically administered gentamycin in the dog's genitourinary organ

Н. М. Окуджава, В. И. Бахуташвили, Б. М. Корсантия. Влияние интерферона на развитие туберкулезной инфекции в клеточных культурах 205  
 ნ. ოკუჯავა, ვ. ბახუტაშვილი, ბ. კორსანტია. ინტერფერონის მოქმედება ტუბერკულოზის ინფექციაზე უჯრედის კულტურებში

N. M. Okujava, V. I. Bakhutashvili, B. M. Korsantia. The influence of interferon on tuberculoze infection in cell cultures

Т. В. Бурджанадзе, М. О. Бежитадзе, А. Г. Гиоргадзе, Г. М. Бабакишвили. Фибриллогенез эволюционно различающихся коллагенов 210  
 თ. ბურჯანაძე, მ. ბეჟიტაძე, ა. გიორგაძე, გ. ბაბაკიშვილი. ევოლუციურად განსხვავებულ კოლაგენთა ფიბრილოგენეზი

T. V. Burjanadze, M. O. Bezhitadze, A. G. Giorgadze, G. M. Babakishvili. Fibrillogenesis of evolutionarily different collagens

**Хроника**  
**Chronicle**  
 ქრონიკა

Конкурс на лучшую работу молодых ученых за 1989 год  
 კონკურსი ახალგაზრდა მეცნიერთა საუკეთესო ნაშრომზე 1989 წლისათვის

УДК 612.825

ФИЗИОЛОГИЯ ЧЕЛОВЕКА И ЖИВОТНЫХ

## ВЗАИМОДЕЙСТВИЕ КАЛЛОЗАЛЬНЫХ АНТИДРОМНЫХ ОТВЕТОВ КОРЫ С ОТВЕТАМИ, РЕГИСТРИРУЕМЫМИ НА СТИМУЛЯЦИЮ НЕКОТОРЫХ ЯДЕР ТАЛАМУСА

З. В. Самадашвили, Г. Р. Давлианидзе, М. Л. Гугушвили

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

Поступила в редакцию 18.04.1988

90161

На наркотизированных нембуталом 18 кошках было изучено взаимодействие вызванных ответов (ВО), регистрируемых на стимуляцию наружного коленного тела (НКТ) и заднего латерального ядра (ЗЛЯ), с вызванными антидромными ответами (ВАО), отводимыми из латеральной и супрасильвиевой извилин, на стимуляцию Fg-5 мозолистого тела (МТ). Опыты показали, что ВАО, регистрируемые в латеральной извилине, и ВО, регистрируемые на стимуляцию НКТ, при определенных межстимульных интервалах (от 40 до 300 мс) угнетают друг друга; в супрасильвиевой извилине взаимодействие не наблюдается. Взаимодействие в латеральной и супрасильвиевой извилинах не было обнаружено при сочетании ответов, регистрируемых на стимуляцию Fg-5 МТ и ЗЛЯ. Взаимодействие ВАО и ВО, наблюдаемое в латеральной извилине при стимуляции МТ и НКТ, можно объяснить конвергенцией (с превалированием тормозных процессов) афферентов из НКТ и возвратных коллатералей каллозальных нейронов на определенных корковых нейронах, что не имеет место в супрасильвиевой извилине.

Известно, что при межполушарной обработке информации важную роль играют как каллозальные нейроны, так и клетки, на которых оканчиваются каллозальные волокна. Многочисленными электрофизиологическими [2, 3, 14] и морфологическими [3, 9, 11, 12] работами установлено, что каллозальные нейроны связывают между собой как гомо-, так и гетеротопические участки коры противоположных полушарий. Кроме того, известно, что каллозальные нейроны направляют свои возвратные коллатерали ипсилатерально и образуют связи с определенными популяциями корковых нейронов данного полушария [6, 13].

В работах, проведенных ранее с целью изучения взаимодействия транскаллозальных ответов и ответов на

раздражение специфического проводящего пути или передаточного ядра [7, 9—11, 16], внимание исследователей уделялось изучению ортодромно отводимых транскаллозальных ответов. Относительно взаимодействия антидромно вызванных каллозальных ответов (т. е. ответов, генерируемых возвратными коллатералами каллозальных нейронов) с ответами, регистрируемыми на раздражение выше-названных подкорковых структур, в имеющейся литературе нет данных.

Целью настоящей работы является изучение взаимодействия антидромно вызванных каллозальных ответов и ответов, вызванных раздражением специфического ядра НКТ и ассоциативного ЗЛЯ таламуса в латеральной и супрасильвиевой извилинах коры полушарий мозга.

Эксперименты поставлены на 18 половозрелых кошках массой 3—4 кг, наркотизированных нембуталом (37 мг/кг внутривенно). Раздражение подкорковых ядер (межэлектродное расстояние 0,3 мм) и мозолистого тела (межэлектродное расстояние около 1 мм) производилось посредством константановых электродов диаметром 0,1 мм. Для регистрации ВАО кошкам предварительно пересекали 2/3 задней части МТ, парасагиттально, с целью дегенерации каллозальных окончаний в противоположном полушарии. По истечении 7—

15 дней при раздражении по средней линии МТ (Fr-5) была возможна регистрация вызванных антидромных ответов, возникающих в коре интактного полушария.

Стимуляция МТ и подкорковых ядер производилась стимулами длительностью не более 0,1 мс посредством стимулятора ЭСУ-2. Биопотенциалы от поверхности коры отводились униполярно серебряными пугочатыми электродами (диаметр 0,8 мм) и после предварительного усиления через УБФ4-03 регистрировались на катодном осциллографе С1-19А.

## РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

При стимуляции НКТ вызванные ответы регистрируются в обширных участках латеральной извилины (поля 17, 18, 19), а также в средних и задних частях супрасильвиевой извилины. Надо отметить, что на границе полей 17—18 амплитуда ВО на стимуляцию НКТ была выше, чем амплитуда ВО, регистрируемых из поля 19 зрительной коры. Однако ВО, отводимые из поля 19, во всех случаях превышали по амплитуде ВО, регистрируемые из супрасильвиевой извилины. Латентные периоды всех ВО, отводимых из латеральной и супрасильвиевой извилин, не превышали 2 мс, что указывает на наличие прямых связей НКТ с регистрируемыми корковыми участками.

В этих опытах отводились ВАО на стимуляцию МТ. Ответы регистрировались в средних частях латеральной и супрасильвиевой извилин, а также в верхних участках задней латеральной и задней супрасильвиевой извилин.

На рис. 1 представлены ВО на раздражение НКТ, регистрируемые из латеральной и супрасильвиевой извилин одновременно. ВО, регистрируемый из латеральной извилины, представляет собой положительно-отрицательный потенциал продолжительностью 40 мс (рис. 1А); в супрасильвиевой извилине, хотя последовательность компонентов остается такой же, амплитуда ответа в несколько раз меньше (рис. 1Б). Кондиционирующее раздражение МТ вызывает резкое уменьшение амплиту-

ды тестируемого ответа, регистрируемого из латеральной извилины при межстимульном интервале 43 мс (рис. 1А, Б). Следует отметить, что это особенно выразалось у положительной фазы ответа, которая исчезала полностью, тогда как отрицательная фаза уменьшалась на 36%. Надо отметить, что при тех же межстимульных интервалах не наблюдалось изменения амплитуды тест-ответа, регистрируемого из супрасильвиевой извилины (рис. 1Б, Б). При межстимульном интервале 70 мс началось восстановление положительной фазы ВО (рис. 1А, В), которая при этом интервале составляет 33% начальной величины, тогда как отрицательная фаза составляет 85%. Дальнейшее увеличение межстимульного интервала вызывает восстановление амплитуды отрицательной фазы, которая достигает фонового уровня при интервале 180 мс (рис. 1А, Е), а положительная фаза достигает фонового уровня при интервалах более чем 250 мс (рис. 1Ж). В других случаях при более коротких (до 10 мс) межстимульных интервалах до 80% угнеталась и отрицательная фаза тестируемого ВО. Во всех случаях восстановление (при увеличении межстимульных интервалов) отрицательной фазы происходило быстрее, чем положительной.

Взаимодействие ВО, регистрируемых на стимуляцию НКТ, и ВАО, регистрируемых на стимуляцию Fr-5МТ (тест ВО на стимуляцию НКТ), исследовалось на 10 кошках (рис. 3Б).

Во всех случаях угнетение тестируемого ВО было обнаружено при коротких межстимульных интервалах: в латеральной извилине — от 60 до 85% (подразумевается угнетение обеих фаз ВА), при этом время угнетения

представлены ВАО, регистрируемые из латеральной (рис. 2А) и средней супрасильвиевой извилины (рис. 2Б) на раздражение МТ. При межстимульных интервалах 50 мс в латеральной извилине ВАО угнетаются на

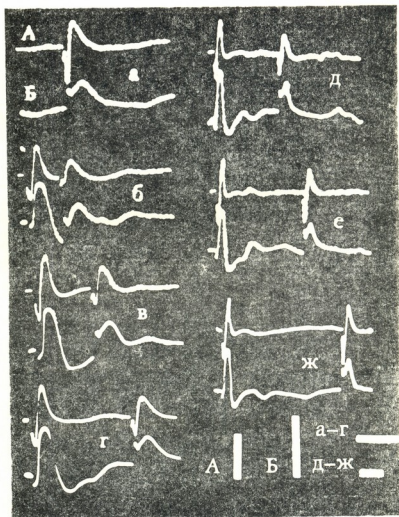


Рис. 1. Изменение ответов коры, вызванных на стимуляцию НКТ, при кондиционирующем раздражении Fg-5 МТ: а — ВО, регистрируемые на стимуляцию НКТ из латеральной (А) и супрасильвиевой (Б) извилин; б, в, г, д, е, ж — ВО при межстимульных интервалах 43, 70, 110, 135, 180, 250 мс соответственно. Осциллограммы, представленные на этом рисунке, являются усредненными из 15 проб; калибровка 50 мс, 500 мкВ

равнялось от 40 до 300 мс (продолжительное угнетение — до 450 мс было получено на одной кошке под глубоким наркозом), тогда как в супрасильвиевой извилине взаимодействия почти не наблюдалось.

Исследовались также ВАО из тех же участков коры при кондиционирующем раздражении НКТ. На рис. 2

52%. Однако надо отметить, что отрицательная фаза уменьшалась на 67%, тогда как положительная уменьшалась лишь на 30%, т. е. угнетение происходило в основном за счет уменьшения амплитуды отрицательной фазы (рис. 2А,б). При межстимульном интервале 90 мс (рис. 2А,в) положительная фаза увеличивается в ампли-



туде (88%) и достигает фонового уровня при межстимульном интервале 130 мс (рис. 2Аг). Отрицательная фаза при увеличении интервала между стимулами также увеличивается в амплитуде, но это происходит

что только при межстимульном интервале 50 мс (рис. 2Б,б) тестируемый ВАО угнетается незначительно (7%), а при более длительных интервалах не изменяется.

Во всех случаях (11 кошек) угне-

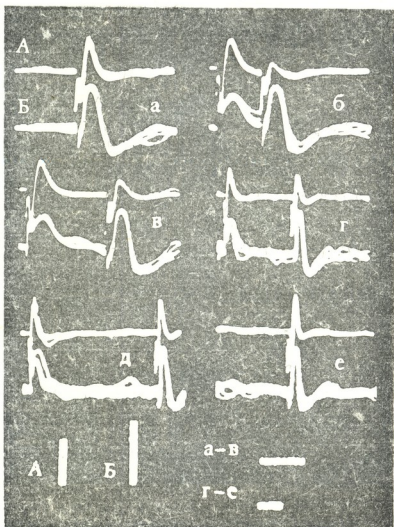


Рис. 2. Изменение ВАО, вызванных на стимуляцию Fg-5 MT, при кондиционирующем раздражении НКТ: а, е — пять наложений фоновых ВАО, регистрируемых из латеральной (А) и супрасильвиевой (Б) извилин; б, в, г, д — ВАО при межстимульных интервалах 50, 90, 130, 250 мс соответственно. Калибровка 50 мс, 500 мкВ

при более длительных межстимульных интервалах; фонового уровня она достигает лишь при интервале 250 мс (рис. 2А,д). Исследование взаимодействия ответов, регистрируемых из супрасильвиевой извилины, показало,

тение тестируемого ВАО было обнаружено в латеральной извилине (в основном отрицательной фазы) в пределах от 53 до 73% при коротких межстимульных интервалах (до 80 мс). Оно наблюдалось при межсти-

мульных интервалах до 250 мс (более продолжительное угнетение наблюдалось у одной кошки при глубоком наркозе).

Что же касается взаимодействия, наблюдаемого в супрасильвиевой извилине, следует отметить, что только

стимуляции НКТ+МТ не наблюдалось.

Как отмечалось выше, исследовалось также взаимодействие ВАО, регистрируемых на стимуляцию МТ, и ВО, регистрируемых на стимуляцию ЗЛЯ (рис. 3). Такие опыты проведе-

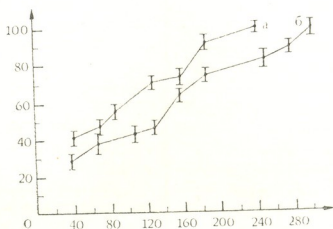


Рис. 3. Средние значения динамики изменения тестируемых ответов коры при последовательной стимуляции Fg-5 МТ и НКТ при разных межстимульных интервалах: А — кондиционирующее раздражение НКТ (11 кошек); Б — кондиционирующее раздражение Fg-5 (10 кошек); на абсциссе — время между стимулами в мс, на ординате — амплитуда в процентах от исходной

три раза отмечалось угнетение ответов до 10% при сравнительно коротких (до 50 мс) межстимульных интервалах. В других случаях при тех же межстимульных интервалах взаимодействия ответов при сочетании

ны на 9 кошках, но взаимодействия не наблюдали ни в супрасильвиевой, ни латеральной извилинах. Оно также не обнаруживалось при обратном сочетании ответов.

## ОБСУЖДЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ

Первые исследования по изучению взаимодействия транскаллозальных ответов с корковыми ответами другого происхождения произведены Чангом [11] и Бремером [9, 10]. В этих работах установлено, что на нейронах коры конвергируют афференты как каллозальных, так и подкорковых систем. В наших опытах показано, что в латеральной извилине на определенные корковые нейроны конвергируют как возвратные коллатерали каллозальных нейронов, так и афференты, исходящие из НКТ.

При изучении взаимодействия было выявлено только тормозное влияние одного ответа на другой (конди-

ционирующее раздражение наносилось как на МТ, так и НКТ). Это, вероятно, объясняется тем, что нембул подавляет возбудительные процессы [1, 4, 8] и в то же время вызывает усиление и увеличение продолжительности тормозных постсинаптических потенциалов [5, 15].

Как указывалось при описании результатов исследования, при кондиционирующем раздражении МТ угнетались обе фазы ВО, отводимого из латеральной извилины на стимуляцию НКТ, с полным подавлением положительной фазы. Предполагается, что раздражение МТ вызывает торможение определенной группы нейронов в

нижних слоях коры, которые активируются в ответ на раздражение НКТ. Следовательно, при кондиционирующем раздражении МТ ВО на раздражение НКТ будет угнетенным в тех интервалах, которые соответствуют продолжительности торможения в популяции нейронов, генерирующих ВО. При обратном порядке сочетания раздражений вышеописанные процессы превалируют в верхних слоях коры, что выявляется в основном в угнетении отрицательной фазы ВАО (66%). Анализируя экспериментальные данные, можно также увидеть, что полная конвергенция импульсов, которая имела место на нейронах глубоких слоев коры при последовательности стимулов МТ+НКТ, почти не выявлялась при обратном порядке сочетания стимулов. Это, очевидно, объясняется тем, что время возбуждения нейронов, включающихся на раздражение НКТ, гораздо короче примененных интервалов, и тестируемый ответ на раздражение МТ оставался без изменения.

Сравнивая взаимодействия ВАО и ВО в латеральной и супрасильвиевой извилинах (в последней, как было

показано на рис. 1 и 2, ответы почти не взаимодействовали), можно сказать, что эффекты в этих участках разные, и, видимо, они определяются разными механизмами. Кроме того, как в латеральной, так и в супрасильвиевой извилинах не было обнаружено взаимодействия ответов на раздражение МТ и ЗЛЯ. Поэтому можно полагать, что в исследуемых областях нет общих корковых нейронов (или они малочисленны), на которых конвергировали бы афференты, направляющиеся из описанных стимулируемых участков, или же афференты имеются только возбуждающие и поэтому их влияние замаскировано при нембуталовом наркозе.

Таким образом, следует заключить, что выявленные в латеральной извилине взаимодействия ВАО и ВО на стимуляцию МТ и НКТ можно объяснить конвергенцией афферентов из НКТ и возвратных коллатералей каллозальных нейронов на определенных корковых нейронах. Наблюдаемое при этом угнетение ответов в условиях данного эксперимента можно связать с превалированием тормозных процессов.

## ЛИТЕРАТУРА

1. Арутюнов В. С., Малолетнев В. И., Нарикашвили С. П. ЖВНД, 20, 1043—1051, 1970.
2. Макаров Ф. Н. Арх. гистол. и эмбриол., 55, 48—54, 1968.
3. Мосидзе В. М., Рижинашвили Р. С., Тотибадзе Н. К., Кеванишвили З. Ш., Акбардия В. К. Расщепленный мозг, «Мециереба», Тбилиси, 1972.
4. Серков Ф. Н., Яновский Е. Ш., Тальпов А. Н. Нейрофизиология, 5, 236—245, 1973.
5. Серков Ф. Н., Яновский Е. Ш., Тальпов А. Н. Нейрофизиология, 6, 339—349, 1974.
6. Фенг И., Фан Н. Цит. по Пурпура Д. М., ИЛ, 1963, 9—136.
7. Ajmone-Marsan G., Morillo A. Arch. Ital. Biol., 101, 1—29, 1963.
8. Andersen P., Andersson S. A. New York, Appleton-Century-Crofts, 224, 1968.
9. Bremer F. Arch. Internat. Physiol., 61, 110—113, 1953.
10. Bremer F. Arch. Ital. Biol., 104, 1—29, 1966.
11. Chang H. L. J. Neurophysiol., 16, 133—144, 1953.
12. Curtis H. J. J. Neurophysiol., 3, 407—413, 1940.
13. Feeney D. M., Orem J. M. Exp. Neurol., 33, 310—321, 1971.
14. Jones E. G., Powell T. P. S. J. Anat. (Lond.), 103, 433—455, 1968.
15. Larsen M. D., Major M. A. Brain Res., 21, 309—311, 1970.
16. Robinson D. L. Exp. Brain Res., 19, 131—144, 1973.



ზ. სამადაშვილი, გ. დავლიანიძე, მ. გუგუშვილი

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

რ ე ზ ი უ მ ე

ექსპერიმენტები ჩატარებულია ნემ-  
ბუტალით დანარკოზებულ 18 კატაზე. შე-  
სწავლილია ლატერალურ და სუპრასილ-  
ვიურ ხვეულეებში რეგისტრირებული გა-  
რეთა დამუხლული სხეულისა და გარეთა  
ლატერალური ბირთვის გალიზიანებით  
გამოწვეული პასუხებისა და კორძიანი  
სხეულის (Fr-5) უბნის სტიმულაციით  
გამოწვეული ანტიდრომული პასუხების  
ურთიერთქმედება. ნაჩვენებია, რომ კორ-  
ძიანი სხეულის გალიზიანებით გამოწვეუ-  
ლი ანტიდრომული პასუხი და გარეთა და-  
მუხლული სხეულის გალიზიანებით გამო-  
წვეული პასუხი ურთიერთდამორგუნვე-  
ლად მოქმედებენ ლატერალურ ხვეულეში  
განსაზღვრული ინტერვალების (40-დან  
300 მსეკ) დროს, ხოლო სუპრასილვიურ

ხვეულეში ასეთი ზემოქმედება არ აღინი-  
შნება. ურთიერთქმედება არ აღინიშნება  
ლატერალურ და სუპრასილვიურ ხვეუ-  
ლებში თუ ერთმანეთს ეთანხმება კორ-  
ძიანი სხეულისა და უკანა ლატერალური  
ბირთვის გალიზიანება.

ვერაუდობთ, რომ ლატერალურ ხვე-  
ულეში აღწერილი კორძიანი სხეულის გა-  
ლიზიანებით ანტიდრომულად გამოწვეულ  
პასუხსა და გარეთა დამუხლული სხეუ-  
ლის გამოწვეულ პასუხს შორის ურთი-  
ერთქმედება უნდა აიხსნას ამ ბირთვის  
აფერენტებისა და კალოზალური ნეირო-  
ნების აქსონების კოლატერალების კონ-  
ვერგენციით განსაზღვრულ ქერქულ ნეი-  
რონებზე, რასაც ადგილი არ უნდა ჰქონ-  
დეს სხვა ველებსა და ხვეულეებში.

## THE INTERACTION OF CALLOSAL ANTIDROMIC CORTICAL RESPONSES AND THOSE EVOKED BY STIMULATION OF SOME THALAMIC NUCLEI

Z. V. SAMADASHVILI, G. R. DAVLIANIDZE, M. L. GUGUSHVILI

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

### S u m m a r y

The experiments were carried out on 18 anesthetized cats. The interaction between the evoked responses (ER) recorded during stimulation of the lateral geniculate body (GL) and the nucleus lateralis posterior (nLP), and the evoked antidromic responses (EAR) driven from the lateral and suprasylvian gyri to the stimulation of Fr-5 area of the corpus callosum (CC) was studied. The experiments have shown that EAR recorded in the lateral gyrus and ER during GL stimulation suppress each other at definite interstimulus intervals (from 40 to 300

ms), while no interaction is observed in the suprasylvian gyrus. No interaction was found in the lateral and suprasylvian gyri when stimulation of Fr-5 area of CC was reinforced with that of nLP. From the foregoing it follows that the interaction between EAR and ER observed during CC and GL stimulations may be accounted for by convergence (with the predominance of inhibitory processes) of afferents from GL and recurrent collaterals of callosal neurons on the cortical ones that does not occur in other areas and at other combinations of responses.

УДК 616—076.5:616.61:001.6

МОРФОЛОГИЯ

## ГИСТОЛОГИЧЕСКАЯ И ЦИТОЛОГИЧЕСКАЯ ДИАГНОСТИКА РЕАКТИВНОЙ ПОЧЕЧНОЙ ПАТОЛОГИИ ЧАСТИЧНО ГЕПАТЭКТОМИРОВАННЫХ КРЫС

Ц. Я. Жгенти

*НИИ экспериментальной и клинической хирургии им. акад. К. Д. Эристави  
МЗ ГССР, Тбилиси*

Поступила в редакцию 21.12.87

Изучены морфологические проявления гепато-ренального синдрома у крыс линии Вистар после удаления правой доли печени и в ряде групп после дополнительных инъекций уретана, ретаболила и актиномицина Д. Закономерным следствием гепатэктомии является развитие тубулопатии и гломерулопатии. Цитологическим критерием диагностики этих состояний является нахождение в мазках нефроцитов, подоцитов, мезангиоцитов и эндотелиоцитов в различных состояниях.

Цитологическая диагностика болезней почек, особенно их ранних стадий, представляет собой мало разработанную область знаний. Известные публикации по нефроцитологии касаются избирательно вопросов клинической цитодиагностики новообразований по-

чек [2—4, 9—11]. Данных по цитодиагностике тубулопатии и гломерулопатии не обнаружено в доступной литературе, что послужило поводом для проведения подобного изучения на экспериментально полученной модели.

### МАТЕРИАЛ И МЕТОДИКА

Эксперименты проведены на крысах линии Вистар. Животным экцизирована правая доля печени под эфирным наркозом с премедикацией дроперидолом в дозе 0,25 мг; рана залита пенициллином и ушита послойно. Питание в первые 18 ч осуществлялось 5%-ным раствором глюкозы, затем обычным рационом. Крысы, пережившие оперативные вмешательства, составили группы по 20 крыс в каждой: гепатэктомированные и получившие дополнительно и отдельно в/м уретан Киевского завода РИАП-троекратно в суммарной дозе 300 и 600 мг; ретаболил фирмы Рихтер и актиномицин Д фирмы Реанал в течение 1 месяца — 10 инъекций в суммарных дозах 2,25 мг и 0,5 мг соответственно. Три группы крыс получили эти же медикаменты в той же дозировке, но не подвергались гепатэк-

томии. По две крысы выводились из опыта и забивались декапитированием без наркоза на 1, 2, 3, 7, 14, 30-е сутки после резекции и инъекции и через 1—2-месячные интервалы на протяжении 18 месяцев. Материалом для исследования служили мазки и срезы тканевых биоптатов. Для цитологического изучения с поверхности биоптатов приготовлены мазки-отпечатки на обезжиренных предметных стеклах. Фиксация и окраска проведены по Лейшману, докраска 25%-ным раствором Романовского-Гимза. Для гистологического изучения тканевые куски фиксированы по Карнау, залиты в парафин по общепринятым правилам, срезы в 5 мкм окрашены гематоксилином и эозином. Анализирование проведено на светооптическом микроскопе МБИ-6.

## РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

При изучении мазков почечных биоптатов установлено, что почечные цитогаммы здоровых крыс представлены россыпью эритроцитов обычного дисковидного типа и мономорфных круглых ядер среднего размера нефроцитов, с четко структурированным, мелкозернистым, нормо- или гиперхромным хроматином, равномерно распределенным по ядру. Эпизодической

цитам с зернистой, эозинофильной дистрофией, имеющимся в тканевых срезах. По современным данным зернистость цитоплазмы является также отражением гиперплазии органелл [5, 8, 10].

Через 48—72 ч после гепатэктомии отмечается обильная десквамация нефроцитов в мазок. Форма нефроцитов кубическая или округлая, в пла-

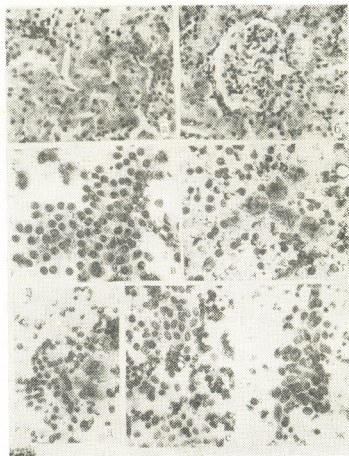


Рис. 1. Гистологические и цитологические проявления реактивной почечной патологии частично гепатэктомированных крыс: а—меж- и внутриканальцевый отек, дистрофия и апикальный цитоллизис нефроцитов; б—отек и расширение мезангиальных пространств почечных гломерул; а—б гистологические срезы. Окраска гематоксилином и эозином. х 300; в—пласт нефроцитов; г—скопление зернистых нефроцитов на эритроцитарном фоне; д—подоциты двуядерные; е—эндотелиоциты; ж—пролиферирующие мезангиоциты; в—ж—цитологические мазки. Окраска по Лейшман—Романовскому—Гимза. х 300 (сухая иммерсия)

находкой является обнаружение канальцев и капсул клубочков, покрытых базальной мембраной снаружи. Изредка можно видеть округлые, зернистые нефроциты, соответствующие нефро-

стах полиэдрическая; цитоплазма с голубоватым оттенком, с легкой дымчатостью и зернистостью; ядро круглое, среднего размера, расположенное обычно у базального полюса

клетки; ядерные контуры ровные, четкие; хроматин зернистый, равномерно распределенный по ядру; нуклеол не видно, или просматриваются мелкие и базофильные. Эти явления нами квалифицированы как явления токсигенной, в данном случае гепатогенной, тубулопатии.

На 7-й день мазки заполнены нефроцитами. Структурированные группы нефроцитов имеют вид продольных и поперечных отпечатков канальцев или развернуты в монослой (рис. 1,в). Тяжелую форму тубулопатии определяет наличие клеток в состоянии дистрофии, некролиза, некроза, деструкции и пластов дисплазированных и пролиферирующих нефроцитов. При дисплазии ядра принимают неправильные очертания, резко контурированы, хроматин грубозернистый и гиперхромный. При пролиферации полихромные ядра нефроцитов занимают пространство цитоплазмы, перекрывают друг друга и придают пласту вид симпласта. Все описанные типы нефроцитов могут содержаться в одном мазке, при этом фоновая гольдерность мазка становится полиморфной. Анизокариоз голых ядер характерен для активного процесса репаративного обновления нефроцитов.

Обычно при выраженной тубулопатии в мазках хронологически последовательно, или одновременно, выявляются клубочковые клеточные компоненты. В первую очередь обнаруживаются подоциты, висцеральные, эпителиальные клетки капиллярного клубочка, плоские, симпластообразные, со светлой цитоплазмой разнообразных очертаний, окружающей ядро со всех сторон. Ядро подоцита круглое, крупное, с характерным сетчатым рисунком нитей хроматина и непрокрашенными, светлыми участками между ними, с четкими хромоцентрами без видимых нуклеол (рис. 1,д). Многоядерные подоциты содержат 2—3 ядра с сетчатым хроматином. Капиллярную патологию определяет нахождение в мазках эндотелиоцитов нормального, дисплазированного, или атенированного вида. Ядра эндотелиоцитов овальные, с мелкозернистым, гипохромным хроматином, равномерного распределения. Цитоплазма бледная, прозрачная, вытянута

по обоим полюсам ядра (рис. 1,е). Все это нами квалифицировано как проявление токсигенной гломерулопатии. При тяжелой форме гломерулопатии видны крупные, полигональные, отростчатые мезангиоциты с большим, пузырчатым ядром с зернистым хроматином. Пролиферирующие мезангиоциты мельче, имеют произвольную форму и встречаются в клеточных скоплениях (рис. 1,ж).  
Нормализация цитологического состава мазка определяется к 14—21 дням после частичной гепатэктомии. В некоторых случаях отмечаются признаки, характерные для тубуло- и гломерулопатии. Особенностью нормализованных цитограмм является обильное содержание зернистых нефроцитов.

Обильная инфильтрация мазков плазмочитами, лимфоцитами, другими мононуклеарами и пролиферация мезангиальных клеток свидетельствуют об активации иммунной системы животных.

Все медикаментозные влияния, обладающая повышенной нефротоксичностью, усугубляют стереотипные проявления тубуло-гломерулопатий, вызванные изначально гепатэктомиями. Нормализация цитологического состава мазков определяется лишь к 2—3-м месяцам, чаще отмечается персистенция признаков тубуло- и гломерулопатий. В группе крыс, получивших после гепатэктомии уретан, и крыс, получивших только уретан, но не гепатэктомированных, к 10—18 месячному сроку, т. е. в период, совпадающий с манифестацией индуцированного этим пульмотропным канцерогеном аденоматоза в легких крыс, отмечается рецидив тубулогломерулопатии, диагностируемый и в срезах и в мазках почечных биоптатов.

В почечных мазках крыс, получивших ретаболил, анаболический стероид и активатор биосинтеза белка, уже с первых суток после инъекции отмечается кариолиз и некроз нефроцитов, видны и активированные голые ядра нефроцитов и обильное количество мембранированных и развернутых пластов нефроцитов. После третьей инъекции мазки инфильтрированы клетками иммунного воспаления. После прекращения инъекций определяются нормальные цитограммы.





Инъекции актиномицина Д, цитостатика и ингибитора биосинтеза белка уже через 24 ч вызывают сильный отек с дестабилизацией почечных структур, что приводит к обильной десквамации в мазок клеточных компонентов канальцев и клубочков: нефроцитов, одно-многоядерных подоцитов, пластов капсульного эпителия, обычных, или дисплазированных эндотелиоцитов, дисплазированных и пролиферирующих мезангиоцитов. Нефротический ответ на актиномициновые инъекции индивидуален и протекает с преобладанием того или иного компонента у разных животных; отмечается общее подавление пролиферативных реакций, «опустошение» мазка, запоздалая активация иммунного ответа. После прекращения инъекций определяются нормальные цитогаммы, или персистируют цитологические признаки вяло текущей тубуло- и гломерулопатии.

Операционный, последующий эндогенный токсикоз и экзогенные влияния приводят к закономерному развитию паренхиматозного, гидрорического нефроза с отеком почечной ткани и дистрофией клеточных компонентов. С первых же дней наблюдения диагностируются меж- и внутриканальцевые отеки, эозинофильная, зернистая трансформация и вакуольная дистрофия нефроцитов, апикальный цитолизис, некробиз, иногда с гомогенизацией структуры. В расширенных межканальцевых пространствах видны поврежденные и лизирующие миоэпителиальные клетки. В гломерулах отмечаются пери- и интрагломерулярные отеки, расширение и контурированность мезангиальных пространств, многоклеточность или, наоборот, запустевание (рис. 1а,б). К 14—21 дням после операции структура почечной ткани частично стабилизиру-

ется, участки компактной укладки перемежаются с отеками, активизируются репаративные и пролиферативные процессы, отмечается склероз и лизис части гломерул. К 14—18 месяцам у переживших крыс вновь диагностируются аналогичные явления, нарастает меж- и внутриканальцевый отек, дестабилизируется укладка, дистрофируются и трансформируются клетки, что позволяет говорить о возможности перехода процесса в хроническую форму нефропатии в условиях гепатогенного токсикоза.

Степень отеочной и дистрофичной дестабилизации канальцев и клубочков определяет качественный и количественный клеточный состав мазка, приводит к обильноклеточности, что позволяет охарактеризовать цитогаммы тубулопатии и гломерулопатии в динамике развития и разрешения. Тубулопатия диагностирована при визуализации в мазке нефроцитов в состоянии нормы, дистрофии, некробиза, деструкции, пролиферации, дисплазии и трансформации. Гломерулопатия диагностирована при нахождении в мазках одно- и многоядерных подоцитов, эндотелиоцитов и мезангиоцитов и их пролифератов в аналогичных состояниях.

Техника приготовления мазка-отпечатка почечного биоптата на предметном стекле явилась преимуществом цитологического метода, позволяющим в ряде случаев лучше, чем в гистологических срезах визуализировать некоторые клеточные компоненты, например подоциты. Полученная модель почечной патологии легко воспроизводима. Можно заключить, что цитодиагностический метод изучения информативен в отношении выявления патологически измененных клеток, их дестабилизированных структурных образований и пролифератов.

**ЛИТЕРАТУРА**

1. Болезни почек (Коллективная монография под ред. Маждракова Н., Попова Н.), София, 1980.
2. Клембовский А. И. Арх. пат., 7, 29—39, 1980.
3. Корякина Р. Ф., Юрасова И. В. В кн.: Цитологическая диагностика опухолевых и предопухолевых процессов, М., 1985, 126—134.

4. Логинов В. А., Кузнецов С. В. Арх. пат., 10, 16—23, 1985.
5. Михайлов И. Г., Смирнов Е. А., Топов Я. А., Руссен Е. В., Васильева Н. Н. Арх. пат., 12, 56—59, 1980.
6. Серов В. В., Варшавский В. А., Ковтун Т. И., Куприянова Л. А. Арх. пат., 1, 25—35, 1983.



7. Шулуток Б. И. Патология почек, «Медицина», Л.—М., 1983

8. Hamperl H. Cancer, 15, 1019—1027, 1962.

9. Nurmi M., Tyrkko I., Puntala P., Sotatauta M., Antila L. Scand J. Urology and Nephrology., 18, 151—156, 1984.

10. Rodrigues C. H., Buskop A., Johnson I., Fromowirz F., Acta Cytologica, 24, 355—359, 1980.

11. Schinohara Y., Frith C. H. Amer. J. Pathology, 100, 455—468, 1980.

თირკმლის რეაქტიული პათოლოგიის ჰისტოლოგიური და ციტოლოგიური დიაგნოსტიკა ნაწილობრივ ჰეპატექტომირებულ ვირთაგვებში

ც. ჯღენტ

ნაქართველოს სსრ ჯანმრთელობის დაცვის სამინისტროს კ. ერისთავის სახელობის ექსპერიმენტული და კლინიკური ქირურგიის ინსტიტუტი, თბილისი

რ ე ზ ი უ მ ე

გამოკვლეულია ჰეპატო-რენალური სინდრომის მორფოლოგიური გამოვლინებანი ვისტარის ხაზის ვირთაგვებში ლეიძლის მარჯვენა ნაწილის ამოკვეთის და შემდგომ ურეთანის, რეტაბოლილის და აქტინომიცინის შეყვანის შემდეგ ოპერაციები ტარდებოდა ეთერის ნარკოზის ქვეშ, დროპერიდოლის პრემედიკაციით ჩვეულებრივი წესით. ჰისტოლოგიური ანალიზის საფუძველზე ჰეპატექტომიების და შემდგომი ენდო-ეგზოგენური ტოქსიკოზების და აგრეთვე ცხოველის დაბერების შედეგად ვითარდება ორივე თირკმლის რეაქტიული პარენქიმატოზური პიდროპიული ნეფროზი, ქსოვილის შეშუპებით და უჯრედოვანი კომპონენტების დისტროფიით. შეშუპებითი და დისტროფიული დესტაბილიზაციის ინტენსიურობა განსაზღვრავს თირკმლის ბიოპტატის ნაცხებში უჯრედების ხარისხობრივ და რა-

ოდენობრივ შემცველობას და გვაძლევს საშუალებას აღვწეროთ ნეფროპათიული ტუბულო- და გლომერულოპათიისათვის დამახასიათებელი ციტოგრამები მათი განვითარების და უკუგანვითარების დინამიკაში. ტუბულოპათიის დიაგნოზი დასმულია სხვადასხვა მდგომარეობაში მყოფ ნეფროციტების ვიზუალიზირების დროს. გლომერულოპათიის დიაგნოზი დასმულია პოდოციტების, ენდოთელიოციტების და მეზანგიოციტების გამოვლინების დროს. ამგვარად მიღებულია ნეფროპათიის ადვილად მისაღწევი ექსპერიმენტული მოდე-ლი.

ციტოდიანოსტიკური მეთოდი შეიძლება მივიჩნიოთ მაღალ ინფორმატიულად პათოლოგიურად შეცვლილი უჯრედების, მათი შეშუპებით დესტაბილიზირებულ სტრუქტურული წარმონაქმნების და პროლიფერატების გამოვლენის თვალსაზრისით.

HISTOLOGICAL AND CYTOLOGICAL DIAGNOSIS OF RENAL REACTIVE PATHOLOGY IN PARTIALLY HEPATECTOMIZED RATS

Ts. I. ZHENTI

K. D. Eristavi Institute of Experimental and Clinical Surgery, Georgian Ministry of Health Tbilisi, USSR

S u m m a r y

Morphological manifestations of hepato-renal syndrome was studied in rats of the Wistar strain after removal of the right lobe of the liver and consecutive injections with urethan, retabolilum and

actinomycin D. The operations were performed under ether anesthesia with droperidol routine premedication. Light microscope was used for the analysis.

Based on histological studies, na-



tural consequence of hepatectomy and the following endo-exogenic toxicoses as well as animals' aging is the development of reactive parenchymatous hydroptic nephrosis of both kidneys with renal edema and dystrophy of the cellular components. The degree of edematic and dystrophic destabilization of tubules and glomerules of the kidney defines qualitative and quantitative cellular composition of smears of renal biopstat. This allows to characterize cytograms of nephropathical tubulo-

and glomerulopathy in the dynamics of their development and recovery. Tubulopathy is diagnosed by visualization of nephrocytes in smears under various conditions. Glomerulopathy is diagnosed by revealed podocytes, endotheliocytes, and mesangiocytes in the smears. Cytodiagnostic method is highly informative regarding detection of pathologically altered cells, their destabilized edematic structural formations and proliferations.

70151

УДК 611.37:537.538.8

МОРФОЛОГИЯ

## НЕКОТОРЫЕ ОСОБЕННОСТИ АРХИТЕКТониКИ СИСТЕМ Выводных протоков, кровеносного и лимфоносного русел поджелудочной железы, выявленные сканирующей электронной микроскопией их инъекционных реплик

Д. Дж. Кордзая

*Тбилисский государственный медицинский институт*

Поступила в редакцию 21.01.88

Архитектоника и взаимоотношение трубчатых структур поджелудочной железы исследованы с помощью сканирующей электронной микроскопии их инъекционных реплик, изготовленных после заполнения названных структур смесью «Протакрил-М» и перекиси бензоила. Выявлены анастомозы между терминальными ветвями артерий панкреаса, спиралеобразная складчатость внутреннего рельефа протоков, а также некоторые особенности стереометрии перидуктальных лимфатических сосудов органа.

Успехи лечения заболеваний поджелудочной железы (ПЖ), наряду с детальным изучением патофизиологии органа, во многом обусловлены исследованием ее топографоанатомических, а равно гистологических и ультраструктурных особенностей [3, 5, 12]. Однако, в отличие от топографии органа и морфологических особенностей панкреоцитов и инсулоцитов, архитектура системы выводных протоков (СВП) панкреаса в связи с гемо- и лимфомикроциркуляцией исследована в меньшей степени [9]. Потребность же в таких исследованиях возрастает в связи с внедрением в

клинику трансплантации органа, а также дренирования грудного протока при тяжелых хирургических заболеваниях панкреаса [2, 3, 9, 11]. Вместе с тем данные исследования названных структур методом сканирующей электронной микроскопии инъекционных реплик (СЭМИР), аналогично результатам исследования схожих структур печени [4, 7, 8, 14], должны быть наиболее информативными. Тем более, что сведения об архитектонике СВП ПЖ, полученные с помощью метода СЭМИР, в литературе не приводятся.

### МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

В данной работе приведены результаты исследования СВП ПЖ трупов 4-х мужчин в возрасте от 25 до 38 лет, а также выводных протоков и микроциркуляторного русла ПЖ 5 половозрелых собак — самцов.

СВП ПЖ человека исследовалась на коррозионных препаратах, полученных путем ее тугого наполнения латексом под давлением 200 мм рт. ст.; микроциркуляторное русло ПЖ собак исследовалось методом СЭМИР (реплики изготовлены за-

полнением протоков ПЖ смесью промышленной смолы «Протакрил-М» и перекиси бензоила (ПБ)\* под давлением 150 мм рт. ст.

Подготовка материала для исследования в сканирующем электронном микроскопе фирмы «Hitachi» проводилась способом Л. Я. Караганова и соавт. [6].

\* 30 мг ПБ на 1 мл «Протакрил-М» — рац. предложение ТГМИ № 207, 1988 г.



На коррозионных препаратах слепки протоков ПЖ человека «вливаются» в соответствующие коллекторы со всех сторон. Рельеф слепков характеризуется циркулярной или спиралеобразной складчатостью. С уменьшением калибров панкреатических протоков шаг спиралеобразной резьбы их слепков также уменьшается. В местах формирования и слияния протоков диаметр слепков несколько мень-

ших протоков связаны слепки слизистых желез в виде ветвящихся отростков.

Своим рельефом, спиралеобразной складчатостью, наличием слепков слизистых желез, а также регионов сравнительных сужений, слепки внутриорганных панкреатических протоков подходят на слепки внутрипеченочных желчных путей, описанных различными исследователями [8, 10, 13]. По всей вероятности, это объясняется схожим развитием печени и ПЖ в эмбриональном периоде онтогенеза, в процессе становления желудочно-кишечного тракта.

На сканограммах инъекционных реплик рельеф слепков мелких панкреатических протоков (внутридольковых, междольковых) характеризуется теми же особенностями, что и латексные слепки панкреатических протоков человека. Вместе с тем, в отдельных участках препаратов, на слепках мелких протоков наложены циркулярные прослойки затвердевшей инъекционной смолы, шириной до 20 мкм и толщиной до 5 мкм (рис 1-3). Учитывая данные литературы о результатах исследования сосудистых структур методом СЭМИР [1], описанные нами прослойки следует расценивать как следствие разрушения целостности эпителиального покрова и распространения смолы между соединительнотканными и мышечными волокнами стенки протоков. В отдельных местах, вследствие полного разрыва стенки протоков, инъекцируемая масса образует «экстравазаты» — течи, которые покрывают сосудистые структуры в виде своеобразного чехла. Часто с указанными течами смолы связаны слепки лимфатических сосудов. Последние характеризуются наличием отпечатков клапанов, а также ядросодержащих зон лимфоэндотелиоцитов, местами же — слепых выпячиваний (рис. 1—4, 5, 6). В некоторых участках коррозионных препаратов диаметр слепков описанных перидуктальных лимфатических сосудов в 2—3 раза превосходит диаметр слепков протоков. Иногда слепки лимфатических сосудов формируют сплетения, обрамляющие слепки протоков ПЖ (рис. 1-4).

Анализируя данные наших скано-

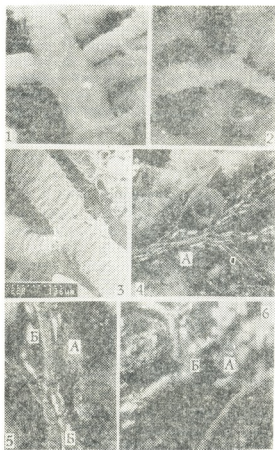


Рис. 1. Слепки СВП и лимфатических сосудов ПЖ: 1,2 — протоки ПЖ человека (коррозионный препарат; бинокулярный микроскоп; об. х 4, ок. х 12,5); 3 — протоки ПЖ собаки (сканограмма инъекционных реплик); 4, 5, 6 — протоки и лимфатические сосуды ПЖ собаки (инъекционные реплики; бинокулярный микроскоп; об. х 2, ок. х 12,5 (4). Об. х 4, ок. х 12,5 (5,6). А — течи смолы; Б — слепок лимфатического сосуда

ше (рис. 1—1,2). Это следует объяснить расположением в указанных местах более плотной «оболочки», сформированной из соединительнотканых и мышечных волокон. В отдельных участках со слепками панкреатиче-

грамм, можно заключить, что аналогично другим органам, имеющим СВП, инъекция СВП ПЖ под давлением, вызывающим разрыв стенок протоков и образование «экстравазатов», является наиболее удобным методом получения слепков лимфатических сосудов [4]. Калибры перидуктальных лимфоносных сосудов ПЖ указывают на значительную интенсивность лимфообращения в органе.

Со слепками мелких панкреатических протоков связаны слепки ацинусов ПЖ. Они представлены в виде деформированных шаров диаметром до 0,05 мм, на поверхности которых различаются отпечатки панкреоцитов и центроацинарных клеток. Совокупность таких шаров создает слепок дольки ПЖ, который занимает объем до 1 мм<sup>3</sup>. В некоторых дольках слепки отдельных смежных терминалей непосредственно переходят друг

к развитию острого панкреатита, особенно его геморрагических форм.

На наших сканограммах кровеносное русло ПЖ представлено густо разветвленной сетью сосудов. В инъекционных репликах хорошо различаются анастомозы между поверхностными и внутриорганными сосудами. Сеть капилляров связана между собой и смежные междольковые артерии (рис. 2-2). Учитывая данные наших исследований, полагаем, что вышеприведенное мнение об отсутствии анастомозов между терминалями внутриорганных артерий ПЖ следует пересмотреть.

Слепок капиллярной сети образует подобие решетки вокруг терминалей СВП ПЖ. По сравнению с размерами слепков ацинусов, капилляры очень тонкие (в легких, по сравнению с размерами альвеол, они гораздо больших диаметров [1]). Они распо-

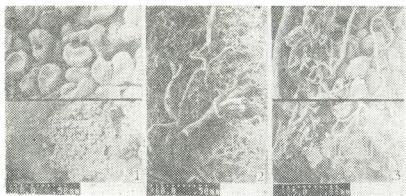


Рис. 2. Слепки кровеносных сосудов и ацинусов ПЖ; 1 — ацинусы ПЖ собаки; 2 — кровеносные сосуды ПЖ собаки; 3 — кровеносные сосуды и ацинусы ПЖ собаки (сканограммы инъекционных реплик)

в друга (рис. 2-1). Можно полагать, что между этими смежными ацинусами существует взаимосвязь. Однако правомерность такого заключения требует дальнейшего исследования и объективного доказательства.

По вопросу об анастомозах между основными артериальными ветвями, кровоснабжающими ПЖ, в литературе нет единого мнения [3]. Вместе с тем междольковые артерии принято считать терминальными, не имеющими коллатералей друг с другом [15, 16, 17]. Высказано мнение, что недостаточность окольного кровообращения на этом уровне имеет отношение

лагаются в щелях между слепками ацинусов ПЖ. В отдельных участках наблюдаются места вытекания смолы как из капилляров, так и из терминалей СВП ПЖ (вследствие разрыва последних). Течи смолы иногда распространяются под капсулой органа и при затвердении образуют пласти, прикрывающие слепки ацинусов и кровеносных сосудов ПЖ. Местами с этими течами связаны слепки внутридольковых и поверхностных лимфатических сосудов, диаметр которых меньше диаметра перидуктальных сосудов (рис. 2-3).

ЛИТЕРАТУРА

1. Атлас сканирующей электронной микроскопии клеток, тканей и органов, М., «Медицина», 1987.
2. Блюмкин Б. Н. В кн.: Итоги науки и техники, М., ВИНТИ, II, 1984, 164—233.
3. Владимиров В. Г., Сергиенко В. И. Острый панкреатит. Экспериментально-клинические исследования, «Медицина», М., 1986.
4. Гусев С. А., Кордзая Д. Дж. В сб.: «Актуальные вопросы биологии и медицины», «Мецниереба», Тбилиси, 1988, 137—145.
5. Дидава Г. К. Морфологические изменения экзокринного аппарата поджелудочной железы при терминальных состояниях, геморрагическом шоке и в ранние сроки после оживления, Автореф. канд. дисс., Тбилиси, 1987.
6. Караганов Я. Л., Миронов А. А., Миронов В. А., Гусев С. А. Архив АГЭ, XXXI, 8, 1981, 5—21.
7. Кордзая Д. Дж. Сообщения АН ГССР, 118, I, 1985, 161—163.
8. Кордзая Д. Дж. Особенности внутрипеченочного желчного русла в норме и в условиях окклюзии общего желчного протока, Автореф. канд. дисс., Тбилиси, 1987.
9. Кулик В. П. Пересадка органов пищеварения, М., Изд-во Университета дружбы народов, 1986.
10. Молодцова Л. С. Внутриорганный структура сосудистой системы и протоков печени человека в связи с сегментарным строением, Автореф. канд. дисс., Чита, 1965.
11. Панченков Р. Т., Выренков Ю. Е., Ярема И. В., Уртаев Б. Н. Лимфосорбция, М., «Медицина», 1982.
12. Пержаков Н. К., Подольский А. Е., Титова Г. П. Ультраструктурный анализ секреторного цикла поджелудочной железы, М., «Медицина», 1973.
13. Тоидзе Ш. С., Кеванишвили Ш. И., Дanelян М. А. Сборник научных трудов Тбилгосмединститута, 23, 1974, 327—330.
14. Тоидзе Ш. С., Кордзая Д. Дж. В сб.: Общие закономерности морфогенеза и регенерации, «Мецниереба», Тбилиси, 1988, 223—226.
15. Hayasaka N., Sasano N. J. Exp. Med., 100, 327—347, 1970.
16. Pfeffer R. B., Lazarini-Robertson A., Safadi D. Surgery, 51, 764—769, 1962.
17. Schonbach G., Sailer F. X., Moller H. D., Amman K. Langenbecks Arch. Klin. Chir., Bd 313, 242, 1965.

კუჭკვევა ჯირკვლის გამომტანი სადინარების, სისხლისა და ლიმფის მილებს სისტემათა არქიტექტონიკის ზოგიერთი თავისებურებანი, გამომვლენილი მათი ინეპტიური რეპლიკების მასპინირებელი ელემენტარული მიკროსკოპიით

დ. კორძაია

თბილისის სახელმწიფო სამედიცინო ინსტიტუტი

რ ე ზ ი უ მ ე

ადამიანისა და ძაღლის პანკრეასის სადინარების, აცინუსების, სისხლისა და ლიმფური მილების თავისებურებანი შესწავლილია კოროზიულ პრეპარატზე. პრეპარატების დამზადება ხდებოდა პანკრეასის სადინარებისა და სისხლძარღვებში „პროტაკრილ-მ“-ის და ბენზოილის ზე-ეანგის ნარევის ინექციით. გამოკვლევა წარმოებდა „Hitachi-ს“ ფირმის ელექტრონული მასპინირებელი მიკროსკოპით.

სკანოგრამებზე კუჭკვევა ჯირკვლის სადინარების ტვიფრების რელიეფი ხასიათდება სპირალისებური ნაოჭებით. სადი-

ნარების შექმნისა და შეერთების ადგილებში აღნიშნულია შედარებით შევიწროებული უბნების არსებობა. ორგანოს ლიმფური სისტემა წარმოდგენილია პერიდუქტალური და პერიაცინარული ლიმფური მილებით. ამასთანვე, ხშირ შემთხვევაში პერიდუქტალური ლიმფური მილების ტვიფრების დიამეტრი აღემატება სადინარების ტვიფრების დიამეტრს. აღწერილია ანასტომოზები ორგანოსშიდა და ზედაპირულ სისხლძარღვებს შორის, აგრეთვე მომიჯნავე წილაკთაშორის არტერიებს შორის.

# SOME PECULIARITIES OF THE ARCHITECTONICS OF PANCREATIC EXCRETORY DUCTS, BLOOD AND LYMPHATIC VESSELS REVEALED BY MEANS OF THEIR INJECTION REPLICAS OF SCANNING ELECTRON MICROSCOPY

D. J. KORDZAIA

Tbilisi State Medical Institute, USSR

## Summary

The peculiarities of pancreatic ducts, acinous, blood and lymphatic vessels in humans and dogs were studied by means of corrosion preparation. The preparations were made by injecting the mixture of „protacryl-M“ and benzoyl peroxide into the ducts and blood vessels of pancreas.

Research was carried out by „Hitachi“ scanning electron microscope.

The imprints of pancreatic ducts relief in scannegrams are characterized

by spiral folds. In the site of the formation and fusion the existence of relatively narrowed regions is noted. The lymphatic system of the organ is represented by periductal and peracinous lymphatic vessels. Besides, in many cases the diameter of the lymphatic vessel imprints exceeds that of the duct imprints.

The anastomoses between the deep and superficial vessels of the organ, as well as between adjacent interlobular arteries are described.

УДК 611.817.1

АНАТОМИЯ

## РЕТРОГРАДНОЕ ПЕРЕРОЖДЕНИЕ НЕЙРОНОВ ЯДЕР МОЗЖЕЧКА ПОСЛЕ ПЕРЕВЯЗКИ МОЗОЛИСТОГО ТЕЛА

Н. К. Тотибадзе, Н. И. Белоиваненко

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

Поступила в редакцию 04.05.88

После среднесагитальной перерезки мозолистого тела кошки количественно изучались ретроградно перерожденные нейроны ядер мозжечка, находящиеся в разной стадии дегенерации. Во всех трех ядрах (шатровом, промежуточном и зубчатом) подсчитывалось соотношение нормальных, дегенерированных и полностью разрушенных нейронов — «клеток-теней».

Предполагается, что волокна нейронов ядер мозжечка, проходящие через комиссу большого мозга в контралатеральное полушарие, являются, в основном, коллатералиями их аксонов.

Большим количеством электрофизиологических работ еще на ранних стадиях изучения мозжечка, при электрическом раздражении его коры и ядер, были отмечены вызванные потенциалы с коротким латентным периодом в различных областях контралатерального полушария коры большого мозга кошки [1, 4, 13, 14, 15].

В некоторых морфологических работах были обнаружены прямые волокна из мозжечковой структуры к некоторым извилинам контралатерального полушария большого мозга [12].

Нами [2, 3, 10] при электролитическом повреждении мозжечковых ядер методом Наута-Гигаке были обнаружены прямые пути, проходящие на противоположное полушарие большого мозга как посредством подкорковых комиссур, так и через мозолистое тело.

### МЕТОДИКА

Четырем взрослым кошкам под нембуталовым наркозом в асептических условиях перерезали мозолистое тело по всей его длине. Спустя два месяца, срока достаточного для

Литературными данными [5, 6, 7, 8, 9, 11] показано значение мозолистого тела не только как чисто корковой, но и как комиссуры, связывающей некоторые подкорковые структуры с корой контралатерального полушария. Полная продольная перерезка мозолистого тела в данной работе, а следовательно, повреждение волокон, идущих из нейронов ядер мозжечка к противоположному полушарию, дает возможность количественного определения ретроградно перерожденных нейронов в этих ядрах, их вида и местонахождения.

Данная постановка опыта исключает влияние побочных артефактов (повреждение мозговой ткани по ходу повреждающего электрода) на результаты эксперимента; полученные данные, поэтому, являются наиболее достоверными.

ретроградного перерождения клеток, аксоны которых травмировались, внутрибрюшинным введением летальной дозы нембутала производили эвтаназию животных. Мозг перфузировали





10%-ным нейтральным формалином, извлекали и сохраняли в таком же растворе формалина. С блоков мозжечка, заключенных в 14%-ный раствор желатины, на замораживающем микротоме брали каждый 5-й срез толщиной в 25 мкм. Срезы 24 ч промывали в дистиллированной воде, после чего проводили в восходящих спиртах и помещали в жидкость Карнуа на один час. Затем их красили кризил-виолетом по методу Ниссля.

Для количественного подсчета клеточного состава (нормальные, дегенерированные, «клетки-тени») ядер мозжечка использовали окуляр с

сеткой общей площадью в 16×40 поле зрения. При увеличении 16×40 поле зрения охватывало площадь препарата в 0,04 мм. Для каждого ядра мозжечка брали по 4 среза с разных уровней и подсчитывали клетки с 5-ти полей зрения в каждом препарате. Подсчитывали средние арифметические величины общего количества клеток, дегенерированных и «клеток-теней» в отдельных ядрах мозжечка. Высчитывали процент дегенерированных и «клеток-теней» от общего количества клеток в ядрах. Достоверность результатов оценивалась по t-критерию Стьюдента.

### РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

Изучение гистологического материала показало наличие перерожденных нервных клеток во всех трех ядрах мозжечка кошки. Было выявлено также, что деструкции подвержены все три типа нервных клеток (большие, средние, мелкие), составляющие эти ядра. В ретроградно перерожденных клетках наблюдается

клетки-тени», у которых граница между ядром и цитоплазмой стерта и вместилища заполнены аморфной массой, чаще всего окружены глиальными элементами. Чем глубже процесс дегенерации нейрона, тем большее количество глиальных клеток располагается около него.

Количественный подсчет нейронов,

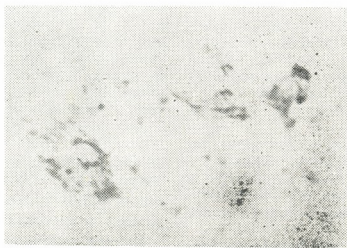


Рис. 1. Полностью деструктурированная нервная клетка — «клетка-тень». Окраска по Ниссля; ок. x 16, об. x 40

нарушение нормального контура клетки, потеря четкости оболочек. Цитоплазма подвержена хроматолизу, более выраженному вокруг ядра и менее к периферии. Ядро часто перемещается эксцентрично к краю клетки. При большей степени дегенерации, клетки полностью вакуолизируются и приобретают вид сот (рис. 1). Полностью деструктурированные «клет-

находящихся на разной стадии дегенерации, дал следующий результат. В шатровом ядре из общего числа подсчитанных нейронов (3075), дегенерированные составляли — 403, а «клетки-тени» — 108. Процентное соотношение дегенерированных нервных клеток к общему их количеству составляет 13% и «клеток-теней» — 2,6%. Статистически обработанные

по *t*-критерию Стьюдента с достоверностью  $P < 0.001$  эти данные представлены в таблице (рис. 2).

В промежуточном ядре, в котором дегенерации подвержены, в основном, нейроны мелких и средних размеров, из общего числа подсчитанных (1536)

количеству в ядре составляет 17,8%, а «клеток-теней» — 4,1% (таблица; рис. 4).

Сравнение полученных результатов указывает на то, что при перерезке комиссуры большого мозга, большее количество перерожденных нейронов

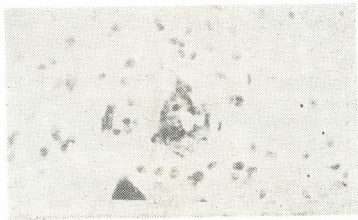


Рис. 2. Дегенерированные нервные клетки шатрового ядра мозжечка. Окраска по Нисслю; ок.  $\times 16$ , об.  $\times 40$

дегенерированных оказалось — 388, а «клеток-теней» — 108. Таким образом, в процентах это составляет: дегенерированных — 25,26%, а пол-

обнаруживается в промежуточном ядре мозжечка и, следовательно, более значительную проекцию в контралатеральное полушарие, посредством

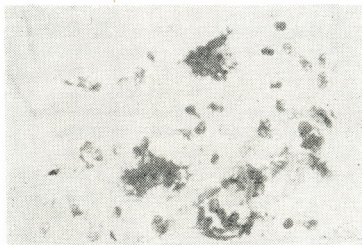


Рис. 3. Дегенерированные нейроны промежуточного ядра мозжечка. Окраска по Нисслю; ок.  $\times 16$ , об.  $\times 40$

ностью разрушенных нейронов — «клеток-теней» — 7,03% (таблица; рис. 3).

В зубчатом ядре из общего количества подсчитанных нервных клеток (2920) дегенерированные составляли — 521, а «клетки-тени» — 120. Процентное соотношение дегенерированных нервных клеток к общему их

проходящих в мозолистом теле волокон, имеет это ядро.

Принимая во внимание тот факт, что ретроградной дегенерации подвергаются нейроны с поврежденными аксонами или их коллатеральными, в нашем материале ретроградное перерождение указывает на присутствие

Отношение количества дегенерированных нервных клеток и «клеток-теней» к общему количеству нейронов в ядрах мозжечка для одного поля зрения после статистической обработки материала по критерию Стьюдента с достоверностью  $P < 0,001$

Ядро мозжечка	Нормальные нейроны	Дегенерированные нейроны	«Клетки-тени»
Шатровое	$30,75 \pm 1,08$	$4,00 \pm 0,30$	$0,80 \pm 0,09$
Промежуточное	$15,36 \pm 0,43$	$3,88 \pm 0,31$	$1,08 \pm 0,11$
Зубчатое	$29,20 \pm 0,73$	$5,20 \pm 0,31$	$1,20 \pm 0,003$

аксонов или их коллатералей в мозолистом теле.

Из общего подсчета ретроградно измененных нейронов установлено, что от 13 до 25% общего количества клеток ядер мозжечка аксоны или их коллатерали отсылают в мозолистое тело. От 2,6 до 7% составля-

ют остальные же перерожденные нейроны можно отнести к клеткам, у которых повреждены отростки не столь большой значимости, ввиду того, что 2-месячный постоперационный период все же не приводит к их полному разрушению.

Исходя из вышесказанного можно

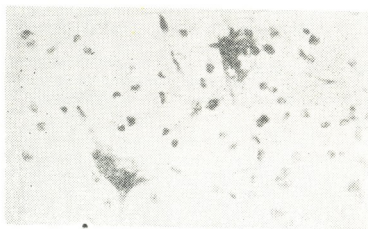


Рис. 4. Дегенерированные нейроны зубчатого ядра мозжечка. Окраска по Нисслю; ок. x 16, об. x 40

ют полностью деструктурированные нейроны — «клетки-тени», у которых, по-видимому, повреждены основные ветви аксонов, так как спустя два месяца после перерезки МТ они подвергаются полному разрушению.

сделать вывод, что связь мозжечковых ядер с контралатеральным полушарием головного мозга кошки через мозолистое тело осуществляется, в основном, посредством коллатеральной системы аксонов.

#### ЛИТЕРАТУРА

1. Бекая Г. Л. Труды Ин-та физиологии АН ГССР, Тбилиси, 14, 101—104, 1965.
2. Белоиваненко Н. И. Изв. АН ГССР, сер. биол., 11, 173—176, 1985.
3. Белоиваненко Н. И., Тотибадзе Н. К. Изв. АН ГССР, сер. биол., 9, 95—98, 1983.
4. Григорян Р. А. Журн. эвол. биохимии и физиологии, 2, 45—52, 1966.
5. Канделаки Р. А. Изв. АН ГССР, сер. биол., 10, 112—116, 1984.
6. Канделаки Р. А., Тотибадзе Н. К. Изв. АН ГССР, сер. биол., 11, 177—180, 1985.





7. Любимов Н. Н., Кроль В. М., Скрупников П. Г., Фокин В. Ф., Уваров В. Г. В кн.: Зрительный и слуховой анализаторы, «Медицина», М., 1969.

8. Тотებაძე Н. К. Сообщение АН ГССР, 39, 705—711, 1965.

9. Тотებაძე Н. К., Акбардия К. К., Пирхалаишвили М. Ш. Сообщение АН ГССР, 59, 473—476, 1970.

10. Тотებაძე Н. К., Белоиваненко Н. И. Сообщения АН ГССР, 98, 185—188, 1980.

11. Glickstein M., Miller J. M., Smith O. A. Science, 145, 159, 1964.

12. Harper J. W., Heat R. G., Exp. Neurol., 42, 241—247, 1974.

13. Henneman E., Cooke P., Snider G. S. Am. J. Physiol., 155, 443—450, 1948.

14. Rispał-Padel L., Latreille J. Exp. Brain Res., 19, 36—60, 1974.

15. Sasaki K., Matsuda Y., Mizuno N. Exp. Neurol., 39, 342—354, 1973.

ნათხემის ბირთვების ნეირონების რეტროგრადული გადაკვარება კორძიანი სხეულის გადაჭრის შემდეგ

ნ. კ. თთებაძე, ნ. ი. ბელოივანენკო

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

რ ე ზ ი უ მ ე

კორძიანი სხეულის გადაჭრის შემდეგ შეისწავლეობდა კატის ნათხემის ბირთვებში ნეირონების რეტროგრადული ცვლილებები. ნისლის მეთოდით შედგებულ პრეპარატებში (ოპერაციის შემდგომი პერიოდი 2 თვე) ნათხემის ბირთვებში აღინიშნებოდა გადაკვარების სხვადასხვა სტადიაში მყოფი ნეირონები და მთლიანად გადაკვარებული უჯრედები — ე. წ. «უჯრედი-ჩრდილები». ნათხემის სამივე ბირთვში (კარავის, შუამდებარე და დაკბილული) ვითვლიდით ნორმალურ, გადაკვარებულ და «უჯრედი-ჩრდილების» რაოდენობას. რაოდენობრივ მაჩვენებლებს

ვამუშავებდით სტატისტიკურად სტიუდენტის *t*-კრიტერიუმის მიხედვით. «უჯრედი-ჩრდილების» არსებობა ნათხემის ბირთვებში მიუთითებს მათ პირდაპირ აქსონალურ კავშირზე კონტრალატერალური ჰემისფეროს ქერქთან კორძიანი სხეულის მეშვეობით. ხოლო გადაკვარებას სხვადასხვა სტადიაში მყოფი ნეირონები უთუოდ მაჩვენებელია მათი პირდაპირი კავშირებისა კონტრალატერალურ ჰემისფეროს ქერქთან კორძიან სხეულში გამავალ მათ აქსონთა კოლატერალების საშუალებით.

RETROGRADE DEGENERATION OF THE CEREBELLAR NEURONS FOLLOWING THE SECTION OF THE CORPUS CALLOSUM

N. K. TOTIBADZE, N. I. BELOIVANENKO

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

Summary

Following a complete longitudinal section of the corpus callosum in adult cats, retrograde degeneration of the cerebellar neurons was studied. Two months after

the surgery, in the Nissl preparations of the cerebellar nuclei the neurons were found to be at various stage of destruction — some were degenerated partially and

others, completely, the so-called 'ghost-cells'. In all the three nuclei (fastigial, interpositus and dentate) the ratio of intact, degenerated and completely destroyed neurons was calculated.

Quantification and statistical treatment were carried out by Student's *t*-test with reliability  $P < 0.001$ .

Complete destruction of the neuron

indicates that it has a direct axonal connection with the contralateral hemisphere of the cerebral cortex through the corpus callosum, while the neurons at various stage of degeneration project to the contralateral hemisphere apparently by the collaterals of their axons, passing through the corpus callosum.

УДК 611.813.1—591.481.1

ГИСТОЛОГИЯ

## ВЛИЯНИЕ ФАРМАКОЛОГИЧЕСКОЙ ДЕПРИВАЦИИ ПАРАДОКСАЛЬНОЙ ФАЗЫ СНА НА УЛЬТРАСТРУКТУРУ СЕПТУМА КОШКИ

Г. И. Кикнадзе, И. Л. Лазриев, Э. И. Дзамоева

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

Поступила в редакцию 10.03.1988

Исследованы изменения ультраструктурной организации ядер септума при фармакологической депривации парадоксальной фазы сна. Найденные сдвиги затрагивают как сому нейронов, его дендритные отростки, пресинаптические терминалы, так и глиальные клетки. Большинство описанных изменений носят реактивный характер, что указывает на некоторую активацию процессов, протекающих в тех или иных структурных элементах изучаемых ядер.

Известно, что при парадоксальной фазе сна (ПС) в мозге развиваются разнообразные мотивационные процессы и селективная депривация ПС оказывает влияние на функциональное состояние центральной нервной системы — на поведение и обучение животных [6, 7, 8, 10]. С этой точки зрения определенный интерес представляет изучение эмоцио-

генных структур мозга. Для понимания же механизмов функциональных сдвигов, вызванных депривацией ПС, необходимо установление морфологических изменений, наступающих при этом в мозге.

Настоящая работа посвящена изучению ультраструктуры ядер септума при фармакологической депривации ПС.

### МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ

Трем половозрелым кошкам в течение 3 дней (3 раза в сутки) вводили по 2 мг парната (течение цикла бодрствование-сон регистрировалось электрографически). Затем головной мозг контрольных и экспериментальных животных, наркотизированных этаминалом натрия (40 мг/кг), перфузировали 2,5%-ным раствором глютаральдегида на фосфатном

буфере (рН-7,4). Через 15—20 мин кусочки изучаемых областей дополнительно фиксировали в 2%-ном растворе четырехоксида осмия на том же буфере в течение 2 ч. Материал обезжоживали и заливали в аралдит по общепринятой методике. Срезы толщиной 50—60 нм контрастировали цитратом свинца и просматривали в электронном микроскопе JEM-100 С.

### РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

В медиальном и латеральном ядрах септума изменения, наступающие после депривации ПС, имеют однонаправленный характер, поэтому при их описании мы приводим обобщенные данные.

Сдвиги, вызванные депривацией ПС, затрагивают как сому нейрона, его дендритные отростки, пресинаптические терминалы, так и глиальные клетки.

Значительное число нейронов под-

вержено периферическому хроматолизу — просветленные участки гиа-лоплазмы практически лишены орга-ноидов (рис. 1а, 4а). В остальной ча-сти цитоплазмы таких нейронов ци-стерны гранулярной эндоплазматиче-ской сети резко набухают, число ри-

ся начальной стадией изменения все-го нейрона. Это предположение, во-первых, подтверждается и тем, что в септальных ядрах интактных животных нет тем-ных нейронов, характерных для дру-гих областей центральной нервной си-стемы.

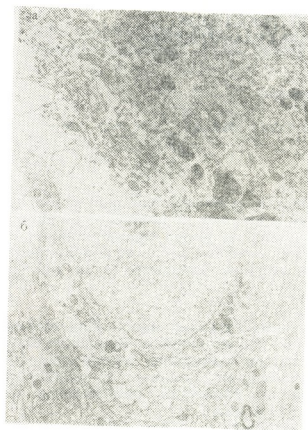


Рис. 1. Септальная область мозга кошки. Фраг-менты нейронов с периферическим хроматолизом (а) и расширенными профилями вакуолярной си-стемы (б). Ув.: а — 17000, б — 9000

босом на их мембранах уменьшается (рис. 1а, б; 4а). Причем расширенные цистерны гранулярной эндоплазматиче-ской сети располагаются в цито-плазме разрозненно, не создавая обычный для нейронов комплекс нис-левской субстанции. Нарушена и це-лостность митохондрий; некоторые из них совершенно лишены крист. Отме-чается образование первичных и вто-ричных лизосом. Аналогичные изме-нения характерны и для дендритов. Часть крупных и средних дендритов набухает, местами они совершенно лишены органондов.

В нейропиле септальных ядер встре-чаются и дендриты с уплотненным матриксом (рис. 2а), можно предпо-ложить, что такое уплотнение являет-



Рис. 2. Нейропил септальной области мозга кошки. Реактивные изменения дендритов и пре-синаптических терминалей различных типов. Ув.: а — 42 000, б — 51 000

На изменение функционального со-стояния дендритов у животных с депривацией ПС указывают и множе-ственные инвагинации в них пресинап-тических терминалей. Причем в ин-вагинированной части пресинаптиче-ской терминали синаптические вези-кулы вакуолизированы, тогда как в оставшейся за пределами дендрита части они сохраняют обычный вид. Встречаются дендриты, в которые терминаль инвагинирована полно-стью, в этом случае она представля-ет так называемый «мультивакуоляр-ный мешочек».

На депривацию ПС реагируют и синаптические образования ядер септальной области. В пресинаптических терминалях, особенно в крупных, число синаптических везикул уменьшается настолько заметно, что об этом можно говорить и не прибегая к математическому анализу. Причем, изменения в пресинаптических терминалях разного типа [4] не совсем идентичны.

Так, во многих терминалях типа I и III число синаптических везикул резко уменьшается. Терминали, содержащие сферические везикулы и образующие активные контакты на мелких и средних стволах и шипиках дендритов (тип I), часто набухают, оставшиеся единичные везикулы собраны у активной зоны (рис. 3а, б).

В терминалях, содержащих наряду со светлыми несколько везикул с плотной сердцевиной и образующих аксо-дендритные, аксо-шипиковые и аксо-соматические контакты (тип III), набухание наблюдается реже; здесь, в основном, наблюдается полиморфизм везикул, появляются миелиноподобные включения (рис. 2б), возрастает число крупных вакуолей и пузырьков с плотным содержимым. Таким образом, терминали типа III претерпевают особенно резкие изменения. По нашему предположению [4], везикулы этих терминалей в качестве медиатора содержат катехоламины, а применяемый нами в опытах парнат, являясь блокатором моноаминоксидазы, должен оказывать непосредственное влияние на катехоламинергические нейроны. Однако, интересно отметить, что изменению подвержены далеко не все терминали типа I и III, некоторые из них полностью сохраняют свою структуру. Поэтому, мы предполагаем, что терминали типа I и III, подвергшиеся вышеописанным изменениям, могут являться окончаниями волокон, приходящих в септум из образований, в той или иной степени ответственных за цикл бодрствование-сон.

Описанная перестройка ультраструктуры нейронов и межнейрональных контактов, несомненно, указывает на изменение уровня активности этих образований. Это, в свою очередь, влечет за собой изменение ионного состава экстрацеллюлярных про-

странств, тем самым вызывая реакцию глиальных клеток. В частности, отмечается набухание как сомы, так и отростков астроцитов, за счет чего матрикс таких клеток просветлен и уменьшается плотность расположения цитоплазматических органоидов. В цитоплазме астроцитов цистерны гранулярной эндоплазматической сети расширены, митохондрии представлены в виде крупных вакуолей, в неко-



Рис. 3. Септальная область мозга кошки. Редукция синаптических пузырьков в аксонных терминалях. Ув.: а — 35 000, б — 27 000

торых из них кристы частично сохранены, резко возрастает количество плотных тел. Степень набухания отростков астроцитов проявляется различно — в одних она только начинается, тогда как в других резко выражена. В некоторых отростках астроцитов заметно увеличивается число частиц гликогена (рис. 4б).

Реакция олигодендроцитов характеризуется резким уплотнением ядерного и цитоплазматического матрикса, увеличением длины и количества цистерн гранулярной эндоплазматической сети, полисом, микротрубочек, компонентов комплекса Гольджи, а также плотных тел с различными включениями (рис. 5а). Встречаются



олигодендроциты, перикарион которых окружен миелиновой оболочкой (рис. 5б). Такое явление, наблюдаемое и при некоторых других экспериментальных воздействиях [2, 11], трактуется как повышение миелинообразующей функции олигодендроцитов. Интересно, что олигодендроциты, выступающие в роли сателлитов нейрона, прилежат чаще к участкам нейронов с периферическим хроматолизом.

Некоторые из описанных выше сдвигов, по нашему мнению, указывают на активацию процессов, протекающих в тех или иных структурных элементах изучаемых ядер. Например, в пресинаптических терминалях на это указывает резкое уменьшение синаптических везикул, что, по мнению ряда исследователей [5, 9], является отражением усиленной утилизации медиатора. Кроме

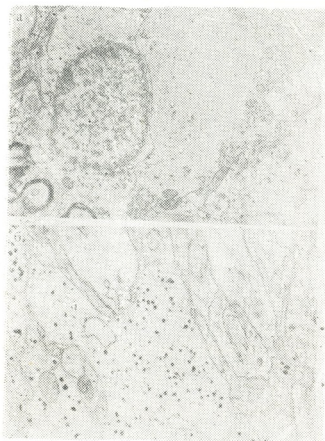


Рис. 4. Септальная область кошки: а — реактивный астроцит прилежит к нейрону с периферическим хроматолизом, б — отростки реактивных астроцитов. Ув.: а — 11 000, б — 35 000

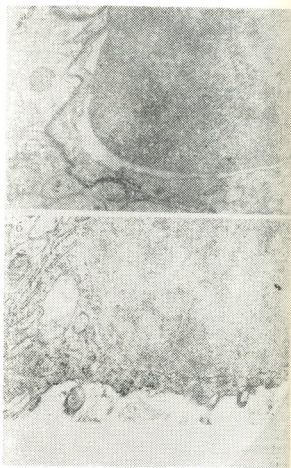


Рис. 5. Септальная область мозга кошки. Реактивные олигодендроциты. Ув.: а — 25 000, б — 30 000

зом. Это лишний раз подтверждает правомочность рассмотрения комплекса нейрон-нейроглия как тесно взаимосвязанную структурно-функциональную систему.

Необходимо отметить, что в изученном нами материале не встречаются изменения, носящие явно дегенера-

того, наблюдаемые инвагинации пресинаптических терминалей в дендриты заметно увеличивают поверхность контактирующих пре- и постсинаптических мембран, что, по нашему мнению, способствует облегчению передачи импульсации [3].

ЛИТЕРАТУРА

1. Горкин В. З. Аминооксидазы, «Медицина», М., 1981.
2. Дзамоева Э. И. В сб.: Функции нейроглии, «Мецниереба», Тбилиси, 1979, 243—251.
3. Лазриев И. Л., Кикнадзе Г. И. Нейрофизиология, 15, 1, 50—55, 1983.
4. Лазриев И. Л., Дзамоева Э. И., Кикнадзе Г. И. Арх. анат., 91, 9, 27—30, 1986.
5. Мхеидзе Е. Г., Кикнадзе Г. И., Лазриев И. Л. Изв. АН ГССР, сер. биол., 5, 3, 223—230, 1979.
6. Ониани Т. Н. В сб.: Нейрофизиология мотиваций, памяти и цикла бодрствования-сон, «Мецниереба», Тбилиси, 1985, 4, 9—58.
7. Dement W. C. Am. J. Psychiat., 122, 4, 404—408, 1965.
8. Dement W., Henry P., Cohen H., Ferguson J. In: Sleep and Altered States of Consciousness, Williams and Wilkins, Baltimore, 1968, 456—468.
9. Kadota K., Kadota T. In: Electron Microscopy, 1980, Leiden, 1980, 2, 142—143.
10. Morden B., Conner R., Mitchell G., Dement W., Levins S. Physiol. Behav., 3, 4, 425—432, 1968.
11. Schultz R. L., Pease D. C. Am. J. Pathol., 35, 6, 1017—1041, 1959.

პარადოქსული ძილის ფარმაკოლოგიური დეპრივაციის  
ბავშვუნა კატის თავის ტვინის სეპტალური ბირთვების  
ულტრასტრუქტურაზე

გ. კიკნაძე, ი. ლაზრიევი, ე. დამოევა

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

რ ე ზ ი უ მ ე

შესწავლილია კატის თავის ტვინის სეპტალური უბნის ბირთვების ულტრასტრუქტურის ცვლილებები პარადოქსული ძილის ფარმაკოლოგიური დეპრივაციის ზეგავლენით. ცვლილებები აღწერილია როგორც ნეირონების სხეულში, მის

დენდრიტებსა და პრესინაფსურ ტერმინალებში, ასევე გლიურ უჯრედებში. აღწერილ ცვლილებათა უმრავლესობა რეაქტიული ხასიათისაა, რაც მიუთითებს ამ ბირთვებში მიმდინარე პროცესების გააქტივებაზე.

THE EFFECT OF PHARMACOLOGICAL DEPRIVATION OF REM SLEEP ON THE ULTRASTRUCTURE OF CAT'S SEPTAL NUCLEI

G. I. KIKNADZE, I. L. LAZRIEV, E. I. DZAMOEVA

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

S u m m a r y

The changes in the ultrastructural organization of the cat's septal nuclei were studied after pharmacological deprivation of REM sleep.

The alterations were found in the neuronal pericaryon, their dendrites and

presynaptic terminals, as well as in glial cells. Most of the changes are reactive indicating a certain activation of different structural elements of the nuclei studied.

УДК 577.152.633 : 593.953 : 591.31

ЦИТОЛОГИЯ

## АДЕНИЛАТЦИКЛАЗА В СЕКРЕТОРНЫХ И МИОЭПИТЕЛИАЛЬНЫХ КЛЕТКАХ ОКОЛОУШНОЙ ЖЕЛЕЗЫ (ЭЛЕКТРОННО-ЦИТОХИМИЧЕСКОЕ ИССЛЕДОВАНИЕ)

Л. В. Мухелишвили

*Онкологический научный центр МЗ ГССР, Тбилиси*

Поступила в редакцию 24.02.1988

Активность аденилатциклазы (АЦ) в клетках околоушной железы мыши изучали электронно-цитохимическим методом с применением аденилилимидодифосфата в качестве субстрата. Отложения продукта цитохимической реакции обнаружались на плазматической мембране как секреторных, так и миоэпителиальных клеток. Следовательно, определенная доля активности фермента в секреторных отделах (ацинусах) приходится и на миоэпителиальные клетки. Этот факт может являться причиной отсутствия четкой корреляции между выявляемой биохимически активностью АЦ в гомогенатах околоушной железы и стимуляцией пролиферации секреторных клеток под воздействием бета-адреномиметических препаратов.

Давно установлено, что бета-адреномиметический препарат изопроterenол стимулирует пролиферативную активность секреторных клеток околоушной железы мыши [2]. Предполагается, что указанное влияние адреномиметика опосредуется бета-адренергическими рецепторами, находящимися в плазматической мембране данных клеток. Это предположение основано на результатах фармакологического анализа при помощи адреномиметических и адренолитических препаратов [1, 5, 10]. Бета-адренергические рецепторы топографически и функционально связаны обычно с АЦ-ферментом, опосредующим действие бета-адренергических стимуляторов через образование циклического аденозинмонофосфата (цАМФ) из АТФ [7]. Однако установить зависи-

мость стимуляции деления секреторных клеток под влиянием изопроterenола от повышения внутриклеточного уровня цАМФ окончательно не удалось. В частности, не удалось обнаружить четкой корреляции между изменением активности АЦ и концентрации цАМФ, с одной стороны, и уровнем пролиферативной активности с другой [3, 5, 8]. Можно предположить, что установлению указанной корреляции препятствует то, что активность фермента определялась в отношении всей массы железы, тогда как на бета-адренергическую стимуляцию пролиферативной реакцией отвечают только секреторные клетки. В этой связи целью данной работы явилось изучение активности АЦ и в других клетках околоушной железы, в частности миоэпителиальных.

### МАТЕРИАЛ И МЕТОДИКА

Опыты поставлены на мышах-самцах линии СВА весом 22—23 г. АЦ выявляли по Фуджимото [6], использовавшего в качестве специфического субстрата аденилилимидодифосфат.

Префиксацию кусочков околоушных желез проводили в смеси 2%-ного параформальдегида («Merck», ФРГ) и 2,5%-ного глутаральдегида («Serva», ФРГ) на 0,1 М какодилатном бу-



фере (рН-7,4) с добавлением 5% диметилсульфоксида («Merck», ФРГ) в течение 30 мин при 4°C. Затем материал инкубировали 30 мин при 37°C в среде, содержащей: 0,5 мМ аденилилимидодифосфата («Boehringer», ФРГ), 4,0 мМ MgSO<sub>4</sub>, 10 мМ NaF, 2,0 мМ теофиллина, 2,0 мМ Pb(NO<sub>3</sub>)<sub>2</sub>,

0,25 мМ сахарозы, 2,5 мМ левамизола (Гидеон Рихтер, Венгрия) и 5,0 мМ диметилсульфоксида; инкубационную среду готовили на 80 мМ трис-малеатном буфере (рН-7,4). Контрольный материал инкубировали в среде без аденилилимидодифосфата. После отмывки материал фиксировали 10 мин в 1%-ном растворе OsO<sub>4</sub>, забуфе-

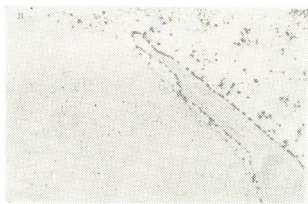
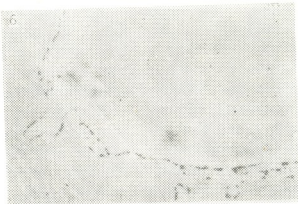


Рис. 1. Электроно-цитохимическое выявление аденилатциклазы в клетках околоушной железы мыши: а — секреторные клетки (x 10 000); б — секреторная клетка с прилегающей к ней миоэпителиальной клеткой (x 17 000); в — поперечный срез через миоэпителиальную клетку (x 25 000)

ренным какодилатом, обезвоживали в спиртах возрастающей концентрации и ацетоне и заключали в Эпон-812. Ультратонкие срезы готовили на ультратоме ЛКВ-8800, контрастировали уранилацетатом и просматривали в электронном микроскопе Jet-7 (Япония).

методической модификации [9]. В мембранах эндоплазматического ретикулула, в цистернах комплекса Гольджи, на ядерной мембране и других внутриклеточных структурах специфический преципитат не обнаруживается.

## РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

При цитохимическом выявлении АЦ применение в качестве субстрата аденилилимидодифосфата, аналога АТФ, дает возможность избежать многих артефактов, наблюдаемых при использовании последнего [4, 6]. Следовательно, выявляемая данным методом ультрацитохимическая реакция образования электронноплотного вещества обусловлена исключительно АЦ.

В нашем случае четкая цитохимическая реакция наблюдалась как в секреторных клетках белковых концевых отделов, так и в прилегающих к ним миоэпителиальных клетках (рис. 1, а, б, в). В частности, отложения продукта ферментативной реакции обнаруживаются в данных условиях в виде отдельных электронноплотных гранул, локализованных на плазматической мембране, которые образуют местами сплошной слой. Следует отметить, что продукт реакции более интенсивно откладывается на базальной стороне секреторных клеток, чем на апикальной, что свидетельствует о более высокой активности АЦ в этой части клетки. Аналогичный результат получен ранее с использованием иной

методической модификации [9]. В мембранах эндоплазматического ретикулула, в цистернах комплекса Гольджи, на ядерной мембране и других внутриклеточных структурах специфический преципитат не обнаруживается.

В материале, инкубированном без субстрата, признаки цитохимической реакции отсутствовали.

Таким образом, результаты работы свидетельствуют о наличии АЦ в плазматической мембране не только секреторных, но и миоэпителиальных клеток околоушной железы. Этим можно объяснить указанное ранее [3, 5, 8] отсутствие четкой корреляции между определяемой биохимически активностью АЦ в гомогенатах околоушной железы и стимулирующей пролиферации секреторных клеток под воздействием бета-адреномиметических веществ. Следовательно, при попытках выявления такой коррелятивной связи необходимо учитывать, что определенная доля активности фермента в секреторных отделах (ацинусах) приходится и на миоэпителиальные клетки.

## ЛИТЕРАТУРА

1. Мухелишвили Л. В., Шарашидзе Л. К., Герсамя Г. К., Гедеванишвили М. Д. Эксп. онкология, 8, 5, 43—45, 1986.
2. Baserga R. In: Proliferation and spread of neoplastic cells. Ed. T. Williams and S. Wilkins, Baltimore, 1968, 261—268.
3. Baserga R. In: Current topics in radiation research. Ed. M. Ebert and A. Howard. Amsterdam, 1974, 7, 254—257.
4. Cutler L. S. J. Histochem. Cytochem., 3, 75—93, 1983.
5. Durham J. P., Baserga R., Butcher F. R. In: Control of proliferation in animal cells. Ed. B. Clarkson and R. Baserga, Cold Spring Harbor, N. Y., 1974, 595—607.
6. Fujimoto K., Toibana M., Ogawa K. Acta Histochem. Cytochem., 14, 6, 687—701, 1981.
7. Hoffman B. B. In: Basic and clinical Pharmacology. Ed. B. G. Katzung, Los Altos, 1984, 86—89.
8. Malamud D. Biochem. Biophys. Res. Commun., 35, 754—755, 1969.
9. Revis N. W., Durham J. P. J. Histochem. Cytochem., 27, 10, 1317—1321, 1979.
10. Schneyer C. A. Proc. Soc. exp. Biol. Med., 131, 71—75, 1969.

# ადენილატციკლაზა უბაჟურა ჯირკვლის სეკრეტორულ და მიოეპითელურ უჯრედებში (ელექტრონულ-ციტოქიმიური გამოკვლევა)

ლ. მუსხელიშვილი

საქართველოს სსრ ჯანმრთელობის დაცვის სამინისტროს ონკოლოგიური სამეცნიერო ცენტრი, თბილისი

რ ე ზ ი უ მ ე

ადენილატციკლაზას აქტიურობა შესწავლილია თავის ყბაჟურა ჯირკვლის უჯრედებში ელექტრონულ-ციტოქიმიური მეთოდის გამოყენებით. ციტოქიმიური რეაქციის პროდუქტი გამოვლინდა სეკრეტორული და მიოეპითელური უჯრედების პლაზმურ მემბრანაზე. მაშასადამე, ფერმენტის აქტივობის გარკვეული წილი მიო-

ეპითელურ უჯრედებზეც მოდის. ამ ფაქტით შეიძლება აიხსნას მკვეთრად გამოხატული კორელაციის არარსებობა ბიოქიმიურად დადგენილ ფერმენტულ აქტივობასა და ბეტა-ადრენომიმეტიური პრეპარატების ზეგავლენით გამოწვეულ სეკრეტორული უჯრედების პროლიფერაციის სტიმულაციას შორის.

## ADENYLATE CYCLASE IN THE SECRETORY AND MYOEPITHELIAL CELLS OF PAROTID GLAND (ELECTRON-CYTOCHEMICAL STUDY)

L. V. MUSKHELISHVILI

Cancer Research Center of the Georgian SSR, Tbilisi, USSR

### S u m m a r y

The activity of adenylyl cyclase (AC) in the cells of mouse parotid gland has been studied by the electron-cytochemistry using adenylylimidodiphosphate as a substrate. Cytochemical studies showed, that the reaction product was localized on the plasma membranes of the secretory and myoepithelial cells.

Consequently, definite part of enzyme activity in the parotid gland comes on myoepithelial cells. This fact can be the reason for the lack of correlation between the AC activity in parotid homogenates and the stimulation of proliferation of secretory cells by the beta-adrenergic drugs.

უკ 616.146.7—007.64—07

პათოლოგიური მოგვლათა

## ოვარიკოვარიკოპოლის ექსპერიმენტული მოდელირების საკითხისათვის

ბ. ბოგორიშვილი

საქართველოს სსრ ჯანმრთელობის დაცვის სამინისტროს წულუკიძის სახელობის  
ურთოლოგიისა და ნეფროლოგიის სამეცნიერო-კვლევითი ინსტიტუტი, თბილისი

შემოსულია 20.05.88.

შესწავილ იქნა თირკმლისმიერი და მენჯისმიერი ვენური ჰიპერტენზიის გავლენა საკვერცხეებზე. ჩატარებულმა კვლევამ ცხადყო, რომ საკვერცხეებში ვითარდება მნიშვნელოვანი სტრუქტურული ცვლილებები, რომელთა სიმძიმე განპირობებულია ვენური ჰიპერტენზიის ხასიათით, ხარისხითა და ექსპერიმენტის ვადით.

უქანასკნელ წლებში მკვლევართა ინტერესს იწვევს მენჯის ვარიკოცელე ქალებში, განსაკუთრებით კი მისი კერძო სახე — ვარიკოვარიკოცელე [1, 2]. დღემდე, დადგენილი არ არის დაღმავალი და აღმავალი ვარიკოვარიკოცელეს გავლენა მენჯის ღრუს ორგანოების ვენურ სისტემაზე.

სავერცხეებზე, განსაკუთრებით საკვერცხეების ფუნქციაზე. სწორედ ამ კუთხითაა შეფასებული კლინიკასთან მიახლოებულ თირკმლისმიერი და მენჯისმიერი ვენური ჰიპერტენზიის მოდელირება და მისი გავლენის შესწავლა საკვერცხეებზე.

### ექსპერიმენტული მასალა და კვლევის მეთოდები.

ექსპერიმენტები ჩატარდა ზრდასრულ მდედრობითი სქესის ძაღლებზე 3 სერიად. პირველ სერიაში (9 ძაღლი) ვაწარმოებდით მარცხენა თირკმლის ვენის სრულ გადაკანკაშვას. მეორე სერიაში (6 ძაღლი) მარცხენა თირკმლის ვენის სანათურს  $1/2$  და  $3/4$  ვავიწროვებდით. მესამე სერიაში (6 ძაღლი) იკვანძებოდა თეძოს შიგნითა ვენა ორივე მხარეს. ოპერაცია უშახაზზე — ლაპაროტომია — კეთდებოდა ზოგადი ნარკოზით კეტალარით დროპერიდოლის, სედუქსენის და ატროპინის დამატებით.

ცვლილებების დინამიკას ვსწავლობდით ექსპერიმენტის დაწყებიდან 1, 3, 6 თვის თავზე. საკონტროლო ჯგუფს შეადგენდა 3 ძაღლი, რომლებზედაც ოპერაცია არ გვიწარმოებია. პირველი ჯგუფიდან მორფოლოგიური კვლევა ჩატარებულ იქ-

ნა 3 ძაღლზე, ხოლო მეორე და მესამე ჯგუფიდან ამ მიზნისათვის 2-2 ძაღლი იყო გამოყოფილი. ცხოველების ევტანაზიას ვაწარმოებდით ჰექსენალის დიდი დოზების შეყვანით თანახმად სსრკ ჯანდაცვის სამინისტროს 1977 წლის 12 აგვისტოს № 755 ბრძანებისა. მორფოლოგიური კვლევისათვის ამოკვეთილი იყო ორივე საკვერცხე, რომლებიც შეისწავლებოდა როგორც მაკრო- ასევე მიკროსკოპულად. მიკროსკოპული გამოკვლევისათვის საკვერცხის შუა სეგმენტიდან ამოიკვეთებოდა  $0,5 \times 0,5 \times 0,5$  სმ ზომის ნაჭრები, რომლებიც ფიქსირდებოდა 10% ნეიტრალური ფორმალინის ხსნარში. ანათლების სისქე 5—8 მკ-ია. ანათლები იღებებოდა ჰემატოქსილინ-ეოზინით და პიკროფუქსინით ვან გიზონით.



მარცხენა თირკმლის ვენის სანათურის სრული დაწმობის შემდეგ მარცხენა საკვერცხეებში აღინიშნება შემდეგი ცვლილებები. ტვინოვან შრეში მკვეთრი სისხლსავსეობაა, უმეტესად ვენური სისტემის ხარჯზე. სტრომა შემუშუბულია, მისი ბოქკოები მეტად გათიშული და გაუხეშებულია. შემაერთებელ ქსოვილში ალაგ აღინიშნება ბაზოფილური შეღებვა, რაც მიუთითებს მუკოიდურ შემუშუბაზე. სხვა უბნებში გამოხატულია დეზორგანიზაცია ფიბრინოიდის წარმოქმნით. დეზორგანიზაციის უბნებში, ვენური სისხლძარღვების გარშემო, ჰემოსიდერინის შემცველი ვრცელი სისხლჩაქცევებია. ვენულებისა და კაპილარების გასწვრივ სხვადასხვა ხანდაზმულობის დიაპედუური სისხლჩაქცევებია. თვითონ კაპილარებში აღინიშნება „სლაჯები“, ვენულებში კი მიკროთრომბები. ქერქოვანი შრე შემუშუბულია და შესივებული და მისი საზღვარი ტვინოვან შრესთან ცუდად ისახება. სტრომაში მუკოიდური შემუშუბაა გამოხატული, აგრეთვე სხვადასხვა ხანდაზმულობის დიაპედუური სისხლჩაქცევებია. ფოლიკულების რაოდენობა მკვეთრად შემცირებულია, ხოლო დარჩენილები რედუქციას და კისტოზურ ცვლილებებს განიცდიან.

ოპერაციიდან სამი თვის თავზე მარცხენა საკვერცხის ტვინოვან შრეში გამოხატული ვენური სისხლსავსეობაა. აღინიშნება სხვადასხვა ხანდაზმულობის ვრცელი სისხლჩაქცევები, რაზეც მიუთითებს ერთგან გამოხატული ჰემოსიდერინული ჰემენტაცია, მეორეგან ჰარბობს ორგანიზაცია, მესამეგან კი ერთოროციტების დაშლის უბნებია. სტრომაში ფიბრინოიდული შესივება და ჰიალინოზია. სისხლძარღვთა კედელი სკლეროზირებულია. სტრომის შემაერთებელ ქსოვილში უჯრედების რიცხვი მომატებულია. საზღვარი ტვინოვან და ქერქოვან შრეს შორის წაშლილია. ქერქოვან შრეში შემცირებულია პირველადი და მცირე ფოლიკულების რიცხვი. ყველა დიდი ფოლიკული კისტოზურადაა შეცვლილი. ფიბროზულ ატრეტული სხეულები მთელ ქერქოვან შრეშია მიმოფანტული. სიღრმეში აღინიშნება თეთრი სხე-

ულაკები, ყვითელი სხეული არ არის. სტრომის შემაერთებელ ქსოვილში უჯრედების რიცხვი შემცირებულია, აღინიშნება ჰიალინოზირებული უბნები.

თირკმლის ვენის გადაკვანძიდან 6 თვის თავზე თეთრი გარსი გასქელებულია და ფიბროზული შემაერთებელი ქსოვილითაა წარმოდგენილი. ქერქოვან შრეში ერთეული პირველადი ფოლიკულებია. ყვითელი სხეული არ არის, ატრეტული სხეულები უსისტემოდაა მიმოფანტული. ქერქოვანი შრის სტრომა ძლიერ გადარიბებულია უჯრედებით, ძირითადად კოლაგენური ბოქკოებითაა წარმოდგენილი და ვრცელ ჰიალინოზირებულ უბნებს შეიცავს. ტვინოვან შრეში აღინიშნება ფიბროზული შემაერთებელი ქსოვილის სიჭარბე ვრცელი ჰიალინოზაციით. ალაგ გამოხატული სისხლჩაქცევებია, რომლებიც ორგანიზაციას განიცდიან. მცირე ყალიბის სისხლძარღვების რიცხვი შემცირებულია, ხოლო შემორჩენილი მსხვილი სისხლძარღვების კედლები გასქელებული და ჰიალინოზირებულია.

მარცხენა თირკმლის ვენის სანათურის ნაწილობრივი დაწმობისას მარცხენა საკვერცხის ტვინოვან შრეში ერთი თვის თავზე აღინიშნება სისხლსავსეობა, ვენულებისა და კაპილარების გაფართოვება. შემაერთებელი ქსოვილი შემუშუბულია, ალაგ უჯრედშორისი ნივთიერების ბაზოფილური შეღებვით. სისხლძარღვების გასწვრივ აღინიშნება სისხლჩაქცევები, ზოგან ჰემოსიდერინის წარმოქმნით. ქერქოვან შრეში ზომიერად გამოხატული ვენური ჰიპერემიაა. პრიმორდიალური ფოლიკულების რიცხვი რამდენადმე შემცირებულია, ხოლო მზარდ ფოლიკულებში აღინიშნება კისტოზური ცვლილებები და ობლიტრაცია.

3 თვის თავზე ტვინოვან შრეში აღინიშნება შემუშუბა, ვენულები და კაპილარები გაფართოებულია, პირველებში მიკროთრომბებია, მეორეებში კი „სლაჯი“ ჰარბობს. შემაერთებელქსოვილოვანი ბოქკოები განშრივებულია, ალაგ ფრაგმენტირებული. ძირითად ნივთიერებაში ბაზოფილური შეღებვის გარდა აღინიშნება





ფიბრინოიდიც. სისხლძარღვთა კედლები რამდენადმე გასქელებულია. ქერქოვან შრეში ფოლიკულების რიცხვი შემცირებულია. მზარდი ფოლიკულები ატრეზიის განიცდიან, ზოგან დეზორგანიზაციას. მოჩანს ატრეტული სხეულები. სისხლძარღვები სისხლსავსეა.

ვენის სანათურის ნაწილობრივი დახშობიდან 6 თვის თავზე მარცხენა საკვერცხის ტვინოვან შრეში ვენური ჰაპერემიის ფონზე ვენულები და კაპილარები გაფართოვებულია. მათ სანათურებში მიკროთრომბები და „სლაჯი“. შემაერთებელ ქსოვილში ზერელე და ღრმა დეზორგანიზაციაა. სისხლძარღვთა კედლები გასქელებული და ჰიალინიზირებულია. ქერქოვან შრეში აღინიშნება სტრომის შემაერთებელი ქსოვილის განვითარება. ფოლიკულების რაოდენობა შემცირებულია. დიდ ფოლიკულებში კისტოზური და ობლიტერაციული ატრეზიის მოვლენებია.

მარჯვენა საკვერცხეების მორფოლოგიურმა კვლევამ დაგვანახა, რომ მარცხენა თირკმლის ვენის სრული გადაკვანძის პირობებში უკვე ერთი თვის თავზე ტვინოვან შრეში აღინიშნება ზომიერად გამოხატული ვენური სისხლსავსეობა. ვენულები და კაპილარები გაფართოვებულია. აღინიშნება სისხლჩაქცევების ერთეული უბნები, თუმცა კაპილარების კედლის მოლიანობა დარღვეული არ არის. შემაერთებელი ქსოვილის ძირითად ნივთიერებაში აღინიშნება ბაზოფილური შეილება. შემაერთებელ ქსოვილოვანი უჯრედების რიცხვი რამდენადმე მომატებულია. ქერქოვან შრეში ფოლიკულურა ელემენტებია გამოხატული, თუმცა მათი რაოდენობა რამდენადმე შემცირებულია. ამასთან ჭარბობს პრიმორდიალური, მცირე და ატრეზიული ფოლიკულები. ყვითელი სხეულები არ ვლინდება. მთელ ქერქოვან შრეში აღინიშნება ფიბროზული ატრეტული სხეულები. სისხლძარღვებში ზომიერი ვენური სისხლსავსეობაა. უჯრედებით მდიდარ ქერქოვანი შრის სტრომაში უმნიშვნელო შეშუპებაა.

სამი თვის თავზე მარჯვენა საკვერცხის ტვინოვან შრეში აღინიშნება ზომიერად გამოხატული ვენური სისხლსავსეობას

სურათი. ვენულები გაფართოვებულია კაპილარებში აღინიშნება „სლაჯი“. სისხლძარღვების გასწვრივ სისხლჩაქცევებია, რომლებიც ალავ დიდი რაოდენობით ჰემოსიდერინს შეიცავენ. შემაერთებელი ქსოვილი შეშუპებულია, უჯრედშორის ნივთიერებაში აღინიშნება ბაზოფილური შეფერვისა და ფიბრინოიდის შემცველი უბნები. ფიბრობლასტების რაოდენობა რამდენადმე მომატებულია. ქერქოვან შრეში ფოლიკულების რაოდენობა შემცირებულია. ასევე შემცირებულია ატრეტული სხეულების რაოდენობაც. სისხლძარღვები გაფართოვებული და სისხლსავსეა. ქერქოვანის შრის სტრომის შემაერთებელი ქსოვილი შეშუპებულია.

6 თვის თავზე მარჯვენა საკვერცხის თეთრი გარსი რამდენადმე გასქელებული და სკლეროზირებულია. საკვერცხის ქერქოვან შრეში პრიმორდიალური და მზარდი ფოლიკულების რაოდენობა წინა ვადასთან შედარებით შემცირებულია. სისხლძარღვები გაფართოვებული და სისხლსავსეა, მათი კედლები გასქელებულია. სტრომის შემაერთებელი ქსოვილი შეშუპებული და ჰიალინიზირებულია. ტვინოვან შრეში აღინიშნება ვენური სისხლსავსეობა. ცალკეულ ვენულებში აღინიშნება მიკროთრომბები, კაპილარებში კი „სლაჯი“. ალავ სხვადასხვა ხანდაზმულობის სისხლჩაქცევებია. შემაერთებელ ქსოვილში კოლაგენური ბოჭკოების რაოდენობა მომატებულია.

მარცხენა თირკმლის ვენის სანათურის ნაწილობრივი დახშობიდან ერთი თვის თავზე მარჯვენა საკვერცხეში აღინიშნება ზომიერი ვენური სისხლსავსეობა, ვენულები და კაპილარები რამდენადმე გაფართოვებულია. შემაერთებელი ქსოვილი შეშუპებულია, თუმცა ბოჭკოებში ცვლილებები არ აღინიშნება. ქერქოვან შრეში გამოხატულია უმნიშვნელო ჰაპერემია, ძირითადად ვენულებისა და კაპილარებს სისხლსავსეობის ხარჯზე. ფოლიკულების რაოდენობა შეცვლილი არ არის, თუმცა მათში აღინიშნება რედუქციის მოვლენები, ხოლო დიდი ფოლიკულები კისტოზურ



ცვლილებებს განიცდიან. ყვითელი სხეულები არ არის.

ექსპერიმენტის დაწყებიდან სამი თვის თავზე ტვინოვან შრეში აღინიშნება უმნიშვნელო ჰიპერემია, კაპილარების გაფართოვებით. შემაერთებელი ქსოვილი ძირითადად ბოჭკოებითაა წარმოდგენილი. ქერქოვან შრეში არის პრიმორდიალური, მცირე და დიდი ზომის მზარდი ფოლიკულები, აგრეთვე ატრეზიული ფოლიკულებიც. ამასთან აღინიშნება ფიბროზულ ატრეტული სხეულები, ხოლო ქერქოვანი შრის სიღრმეში დიდი მოცულობის ჰიალინური წარმონაქმნები — თეთრი სხეულები. ქერქოვანი შრის სტრომის შენებაში რაიმე გადახრა არ აღინიშნება.

ექვსი თვის თავზე მარჯვენა საკვერცხის ტვინოვან შრეში აღინიშნება კაპილარების უმნიშვნელო გაგანიერება. ქერქოვანი შრე მდიდარია მზარდი ფოლიკულებით, რომლებშიც რაიმე დარღვევა არ აღინიშნა. პრეპარატებში ჭარბადაა სხვადასხვა სიმწიფის ყვითელი სხეულები.

ექსპერიმენტების მესამე სერიაში იკვანძებოდა თემოს შიგნითა ვენა ორთავე მხარეს. ამდენად ყალიბდებოდა მენჯის ღრუს ორგანოების ვენური სტაზი და ჰიპერტენზია, რაც აპირობებდა ორმხრივ აღმავალ ოვარიოვარიოცელეს განვითარებას. ამ დროს ორთავე საკვერცხეში აღინიშნა ცვლილებები ანალოგიური მარცხენა საკვერცხისა, მარცხენა თირკმლის ვენის სრული გადაკვანძვის დროს. ექსპერიმენტების ერთი თვის თავზე ტვინოვან შრეში აღინიშნა, როგორც მუკოიდური, ასევე ფიბრინოიდული შეშუპება. ვაშხაბტულია ასევე ჰემოსიდერინის შემცველი სისხლჩაქცევის უბნები. ამასთან ქერქოვან შრეში მკაფიოდა გამოხატული ვენური სისხლსავსეობისა და სისხლჩაქცევების გარდა დიდი ფოლიკულების კისტოზურა გადაგვარება.

მესამე თვის თავზე საკვერცხეების ქერქოვან შრეში აღინიშნება დიდი მოცულობის ჰიალინოზირებული უბნები. პარველადი ფოლიკულების რიცხვი მკვეთრად არის შემცირებული, ყვითელი სხეული არ ჩანს. ტვინოვან შრეში ვითარდება

ფიბროზული შემაერთებელი ქსოვილი ჰიალინოზის მოვლენებით. ამ ცვლილებების ექსპერიმენტის ბოლომდე სხვა ცვლილებები, გარდა სკლეროზული მოვლენების პროგრესირებისა, აღინიშნული არ იქნა.

ამრიგად, მარცხენა თირკმლის ვენის სრული დახშობის პირობებში ვითარდება დღმავალი ოვარიოვარიოცელე, რომელიც აპირობებს ორთავე საკვერცხეში ღრმა დისციკულატორულ ცვლილებებს, რომლებიც საბოლოო ჯამში სკლეროზით მთავრდება. აღინიშნული მოვლენები მარცხენა საკვერცხეში ჭარბობს, თუმცა პარენტიმის და ფოლიკულების დაზიანება, მათი განვითარებისა და მომწიფების დარღვევა მარჯვენა საკვერცხეშიც ვითარდება.

თირკმლის ვენის სანათურის ნაწილობრივი დახშობისას დისციკულატორული ცვლილებები ძირითადად მარცხენა საკვერცხეში ვლინდება, თუმცა შეშუპება და ვენური სისხლსავსეობა აღინიშნება მარჯვენა საკვერცხეშიც სამი თვის ვადაში. შემდეგ აქ სისხლისმდინარება ნორმალისდება, ხოლო მარცხენა საკვერცხეში სკლეროზული პროცესი პროგრესირებს. მარჯვენა საკვერცხეში 3 თვის ვადაზე აღინიშნება ფოლიკულების ზრდის ერთგვარ ჩამორჩენა, რაც 6 თვის თავზე პრაქტიკულად ნორმაში მოდის, მაშინ როდესაც მარცხენა მხარეს ექსპერიმენტის ვადის ზრდასთან ერთად ფოლიკულების მომწიფება უფრო მეტად ირღვევა. თემოს შიგნითა ვენების ორმხრივი გადაკვანძვის დროს ორთავე საკვერცხეში ზემოდხსენებული დისციკულატორული ცვლილებები უფრო მკაფიოდ არის გამოხატული და უარყოფითი დინამიკით ხასიათდება.

ჩატარებულმა ექსპერიმენტულმა კვლევამ რამდენადმე შუქი მოფინა იმ დისფუნქციურ ცვლილებებს, რომლებიც ოვარიოვარიოცელიან ავადმყოფებს აღინიშნებათ. საფიქრებელია, რომ ვენური სტაზი შიგნითა სსსქესო ორგანოებში აპირობებს ხანგრძლივად მიმდინარე ქრონიკულ ანთებით პროცესებს, რომლებიც ჩვეულებრივ მკურნალობას პრაქტიკულად არ ექვემდებარებიან. იგივე უნდა იყოს



ანოვულატორული და აციკლური მენსტრუალური ციკლის მიზეზი, ჰორმონალური დარღვევებით განპირობებული. ეს რომ ესეა, ამაზე თუნდაც ის მეტყველებს, რომ ვენური სტაზის კორექციის შემდეგ (გაფართოვებული ოვარიული ვენის ენდოვასკულური ოკლუზია, ნეფროპექსია, სპეკერცხის ვენის ამოკვეთა, ივანისევიჩის

ოპერაცია და ა. შ.), როცა მენჯის ლოკუს ორგანების ვენური პიპერტენზია ხსნებდა, თვალნათლივ ხდება მენსტრუალური ციკლის მოწესრიგება და დარღვეული ჰორმონალური ბალანსის გამოკეთება. ამრიგად, ჩატარებულმა კვლევამ საშუალება მოგვცა გაგვეტარებინა კლინიკო-ექსპერიმენტული პარალელები.

შ ი ტ ი რ ა ტ შ ი რ ა

1. Лопаткин Н. А. Бочоришвили Г. Г. Урология и нефрология, 6, 3—6, 1986.  
 2. Bochorishvili G. G. Managadze L. G. In.: Povzetki Rezimei 10 Kongres Urologov Jugoslavije, Bled, 25 — 28, 1988, 37—37.

**ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОЕ МОДЕЛИРОВАНИЕ ОВАРИКОВАРИКОЦЕЛЕ**

**Г. Г. Бочоришвили**

Научно-исследовательский институт урологии и нефрологии им. А. П. Цулукидзе МЗ ГССР, Тбилиси

**Р е з ю м е**

Экспериментальное моделирование овариовариоцеле выполнено на 21 беспородной половозрелой собаке-самке. В первой серии опытов (9 собак) полностью перевязывали левую почечную вену, во второй серии (6 собак) левая почечная вена суживалась частично, в третьей (6 собак) — перевязывали обе внутренние подвздошные вены.

Морфологическое исследование спустя 1,3,6 месяцев от начала эксперимента показало, что при полной перевязке левой почечной вены в левом яичнике развиваются тяжелые дисциркуляторные изменения, однако поражение паренхимы и нарушение образования и созревания фолликул происходит и в правом яичнике. При неполной перевязке почечной вены дис-

циркуляторные изменения в основном развиваются в левом яичнике, хотя признаки застоя и отека до 3 месяцев эксперимента отмечаются и в правом яичнике. Затем кровообращение нормализуется с правой стороны, а слева постепенно нарастают склеротические изменения. При полной перевязке внутренних подвздошных вен в обоих яичниках указанные патологические процессы более резко выражены и быстро прогрессируют. Экспериментальные данные позволяют объяснить механизм наблюдаемых у пациенток с овариовариоцеле нарушений (ановуляторный менструальный цикл, гормональные нарушения), которые восстанавливаются после устранения венозного застоя.

**EXPERIMENTAL MODELLING OF OVARICOVARICOCELE**

**G. G. BOCHORISHVILI**

Institute of Urology and Nephrology, Georgian Ministry of Health, Tbilisi, USSR

**S u m m a r y**

Experimental modelling of ovarico-varicocele was carried out in 21 mongrel female dogs. In the first group (9 dogs) the left renal vein was completely occlu-

ded, in the second group (6 dogs) the lumen of the left renal vein was partially constricted and in the third group (6 dogs) the both internal illiac veins were liga-

ted. In groups I and II the descending variety of ovaricovariocele has developed on the left because of renal venous hypertension. In group III the ascending ovaricovariocele has developed because of pelvic hypertension.

Morphological study 1,3, 6 months after the onset of experiment has revealed that the complete ligation of the left renal vein results in the development of severe discirculatory changes in the left ovary, however affection of parenchyma and disturbance in the formation and maturation of folliculi occur in the right ovary too. At partial ligation of the renal vein discirculatory changes develop mainly in

the left ovary, though the signs of stasis and edema are in evidence also in the right one until 3 months of the experiment, and later on, circulation starts to be normalized on the right side, while on the left the sclerotic changes enhance. At the complete ligation of the internal iliac veins the indicated pathological processes become more pronounced and rapidly progress in both ovaries. Experimental data enable to explain the mechanism responsible for ovaricovariocele disturbances (unovulatory menstrual cycle, hormonal disorders) that can be restored after the elimination of venous stasis.

УДК 577.1+577.15

БИОХИМИЯ

## МИНОРНЫЙ ТЕРМОСТАБИЛЬНЫЙ КОМПОНЕНТ ЦЕЛЛЮЛАЗНОГО КОМПЛЕКСА *Trichoderma reesei*

Э. Г. Квеситадзе, Т. В. Ломиташвили

Институт биохимии растений АН ГССР, Тбилиси

Поступила в редакцию 26.12.88

В целлюлазном комплексе известного мезофильного продуцента *Trichoderma reesei* обнаружен минорный компонент эндоглюканазы, образующий восстанавливающие сахара из микрокристаллической целлюлозы. Период полуинактивации фермента в присутствии избытка нерастворимого субстрата — микрокристаллической целлюлозы — при 65° равен 21 часу, что в десятки раз превышает по термостабильности другие компоненты целлюлазного комплекса из этого источника.

Важной проблемой в практической реализации ферментативного гидролиза целлюлаз является проведение процесса при температуре пастеризации (65°C и выше) с целью избежания или сведения к минимуму микробного заражения реакционной системы. Одним из путей в этом направлении является поиск перспективных термофильных продуцентов целлюлаз, грибов и бактерий. Известно, что ос-

новные компоненты (эндоглюканаза и целлобиогидролаза *T. reesei*) имеют в отсутствии нерастворимого субстрата период полуинактивации при 65°C от 4 (целлобиогидролаза 1) до 20—40 мин (эндоглюканаза) [1].

Настоящая работа посвящена изучению термостабильного минорного компонента эндоглюканазы целлюлазного комплекса мезофильного гриба *T. reesei*.

### МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ

Выделение термостабильной фракции целлюлаз из целлюлолитического комплекса промышленного мутанта *T. reesei* проводили путем аффинной хроматографии на колонке с микрокристаллической целлюлозой фирмы «Lachema» (ЧССР).

Ионообменную хроматографию проводили на колонке, где носителем служил Deae Toyoperl Hw-650 (Япония).

Определение активности и термостабильности проводили двумя методами:

1. Гидролиз микрокристаллической целлюлозы осуществляли в колонном реакторе при 65°C. Восстанавливающие сахара измеряли по Шомоди [7]

и Нельсону [6]; в качестве стандарта использовали глюкозу.

2. Эндоглюканазную активность определяли вискозиметрически [4], где субстратом служила натриевая соль карбоксиметилцеллюлозы.

Концентрацию белка анализировали по Бредфорду [5]; в качестве стандарта использовали бычий сывороточный альбумин фирмы «Reanal» (Венгрия).

Молекулярный вес белков определяли с помощью электрофореза в 15%-ном полиакриламидном геле [2].

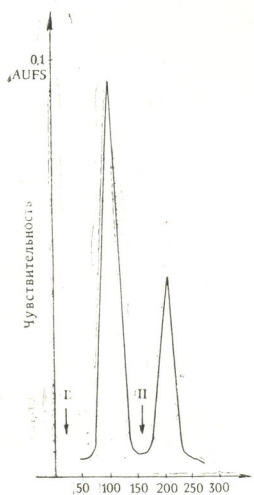
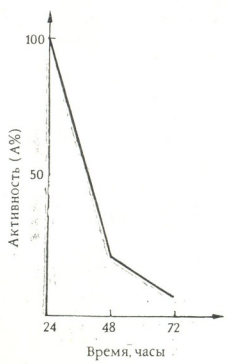
Изoeлектрическую точку определяли по методу [3]; использовали белки с известными изoeлектрическими точками (рис. 4,Б).



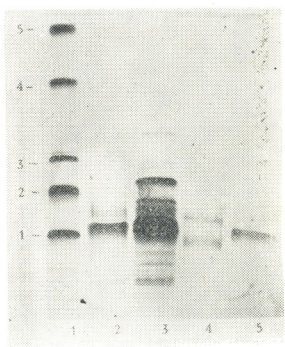
## РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

Для изучения термостабильности расщепляющего нерастворимый субстрат (микрористаллическая целлю-

Рис. 1. Гидролиз микрористаллической целлюлозы (1g) при 65°C в колонке с Na-ацетатным буфером, pH 4,5, ферментным препаратом целлювиридин ГЗх. Условия опыта: концентрация белка — 3 мг/мл; по оси ординат — активность адсорбированных ферментов в % от их активности за первые сутки (24 ч)



А



Б

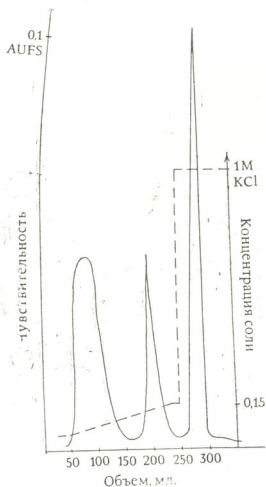
Рис. 2. А—аффинная хроматография на микрористаллической целлюлозе препарата Т. reesei, осажденного сульфатом аммония; 1 — начало пропускания ферментного препарата в 0,01 М в фосфатном буфере, pH 7,5; 2 — смыв водой термостабильной фракции; Б—SDS-электрофорез в полиакриламидном геле; 1 — метки (1—альбумин—68000; 2—пероксидаза — 44000; 3 — карбоангидраза — 30000; 4 — соевый ингибитор трипсина — 20000; 5 — лизоцим — 14000); 2—фракция, смываемая водой; 3 — исходный препарат; 4 — фракция, смываемая с ионообменной хроматографии при низких концентрациях соли; 5 — фракция, смываемая с ионообменника 1 М КCl

лоза) был разработан методический подход, заключающийся в определении времени полуинактивации фермента в операционных условиях. Под этим термином понимаются условия гидролиза микрокристаллической целлюлозы в колонном реакторе ферментом, адсорбированным на целлюлозе при 65°.

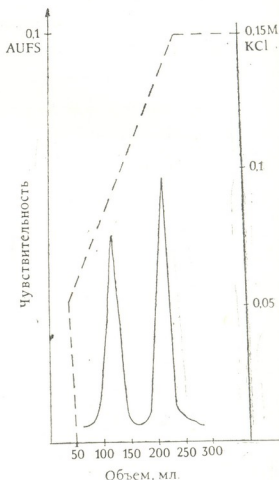
Ферментный препарат — целлови-

стабильного компонента, очистка и характеристика которого и представляла интерес для нашей работы.

Для очистки термостабильного компонента на первом этапе проводили аффинную хроматографию на колонке, где носителем служила микрокристаллическая целлюлоза (рис. 2, А). Препарат наносили в 0,01 М фосфатном буфере, а прочносорбирующую



А



А

Рис. 3. Ионобменная хроматография на Deae Toyoperl Nw-650: А—градиентная элюция от 0,05 М до 0,15 М и до 1 М KCl; Б—от 0,05 М до 1,5 М KCl

ридин ГЗх — обессаливали ультрафильтрацией и наносили на термостабируемую колонку с микрокристаллической целлюлозой, предварительно прогрет препарат при 65° в Na-ацетатном буфере, pH 4,5. Промыв реактор восьмью объемами того же буфера, его перекрывали. Отбор проб производили через сутки и анализировали на содержание восстанавливающих сахаров до фактического прекращения появления растворимых сахаров на выходе. Кривая падения активности ферментного препарата (рис. 1) указывала на наличие в нем

стабильный компонент смывали водой. Электрофоретический анализ смывой фракции показан на рис. 2, Б — вторая дорожка.

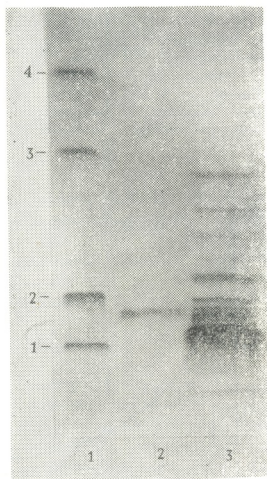
Следующим вторым этапом очистки являлась ионнообменная хроматография (рис. 3, А), где носителем служил Deae Toyoperl. Смывую с аффинной хроматографии водную фракцию наносили на ионнообменник в воде последующей элюцией градиентом соли KCl от 0,05 М до 0,15 М и до 1 М. Как показал электрофоретический анализ (рис. 2, Б), по четвертой до-

рожке белки с молекулярными мас-  
сами 46000 и 68000 сохраняли ста-  
бильность по отношению к микрокри-  
сталлической целлюлозе при 65° с  
периодом полуинактивации, равным  
20 ч.

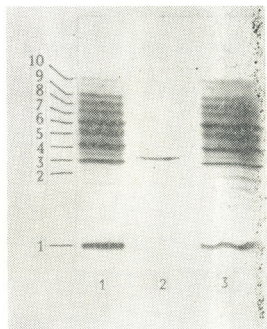
Третьим этапом очистки стабильной

компонент представляет собой белок  
с молекулярной массой 4600, являю-  
щийся минорной частью исходного  
препарата T. reesei.

Изоэлектрическая точка очищенно-  
го белка соответствовала  $P_I=5,2$   
(рис. 4,Б, вторая дорожка).



А



Б

Рис. 4, А — SDS-электрофорез в полиакриламидном геле: 1 — метки (1 — альбумин — 68 000; 2 — пероксидаза — 44000; 3 — соевый ингибитор трипсина — 20000; 4 — лизоцим — 14000); 2 — в присутствии меркаптоэтанола — очищенного термостабильного белка с молекулярным весом 46 000, являющегося минорной фракцией исходного препарата — 3; Б — изоэлектрофокусирование минорного термостабильного белка в агарозном геле с градиентом амфолинов от 3,5 до 9,5; 1 и 3-я дорожки — метки (1 — амилоглюкозидаза  $P_I$  3,5; 2 — соевый ингибитор трипсина  $P_I$  4,55; 3 —  $\beta$ -лактоглобулин А  $P_I$  5,2; 4 — карбоангидраза (Ното) В  $P_I$  6,55; 5 — миоглобин (кислая форма)  $P_I$  6,85; 6 — миоглобин (щелочная форма)  $P_I$  7,35; 7 — миоглобин (кислая форма)  $P_I$  8,15; 8 — миоглобин (средняя форма)  $P_I$  8,45; 9 — лектин (щелочная форма)  $P_I$  8,65; 10 — трипсин-ген  $P_I$  9,3; 2-я дорожка — очищенный термостабильный белок с  $P_I$  5,7

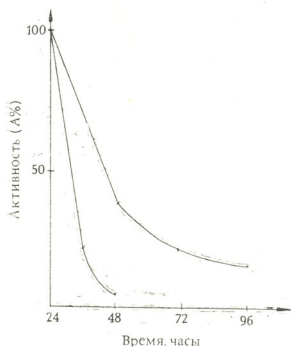
фракции, смывой с ионообменной хро-  
матографии, являлась рехроматогра-  
фия на том же носителе в тех же ус-  
ловиях (рис. 3,Б). Стабильность по  
отношению к микрокристаллической  
целлюлозе при 65° сохранялась у  
первой фракции, смывой при низких  
концентрациях соли. Электрофорети-  
ческий анализ (рис. 4,А, дорожка 2)  
показал, что искомый стабильный

Очищенный стабильный белок  
сравнивали с основным эндоглюка-  
назным компонентом, попутно очи-  
щаемым на второй стадии (рис. 2,Б,  
пятая дорожка), по способности  
гидролизовать микрокристаллическую  
целлюлозу при 65° в колонном реак-  
торе. Как показано на рис. 5,А, вре-  
мя полуинактивации очищенного бел-  
ка — до 23 ч — значительно превосхо-

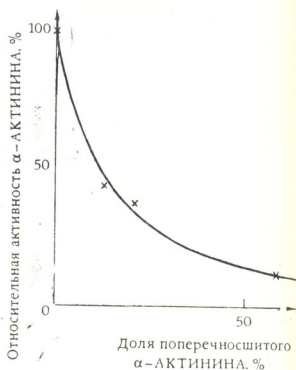
дидо основной эндоглюканазный компонент по термостабильности.

Одной из причин высокой стабильности очищенного белка могла быть стабилизация субстратом. Для выяснения этого, проводили термоинактивацию без субстрата и сравнивали стабильный белок с основным эндоглюканазным компонентом. Как показано на рис. 5,Б, время полуинактивации очищенного компонента соот-

влияет на термостабильность. В присутствии субстрата очищенный компонент эндоглюканазы в 13,5 раз превосходил основной эндоглюканазный компонент того же препарата, что, несомненно, говорит о высокой стабильности очищенного белка. Таким образом, культура *T. reesei* образует белок, способный гидролизовать микрокристаллическую целлюлозу, при 65°, с временем полуинак-



А



Б

Рис. 5 А—гидролиз микрокристаллической целлюлозы при 65°C с выделенным стабильным компонентом (2) и исходным препаратом (1), уравненным по активности за 24 ч при 50°C; А% — активность адсорбированных ферментов в % от их активности за первые сутки; Б—термоинактивация без субстрата при 65°C; активность измерялась вискозиметрически [4]; А ед/мг—активность белка

ветствовало 68 мин, а основного эндоглюканазного компонента — 5 мин. Сравнительная термоинактивация очищенного компонента в присутствии нерастворимого субстрата и в отсутствии субстрата показала, что одной из причин высокой стабильности очищенного белка является стабилиза-

тивации, равным 23 ч в присутствии субстрата; в его отсутствии фермент теряет половину своей активности за 68 мин.

Показано, что молекулярный вес очищенного исследуемого белка равеняется 46000, изоэлектрическая точка  $P_I-5,2$ , а эндоглюканная активность — 76 ед/мг.



ЛИТЕРАТУРА

1. Клесов А. А., Рабинович М. Л., Нуцубидзе Н. Н., Тодоров П. Т., Ермолова О. В., Черноглазов В. М., Мельник М. С., Куде Е., Джафарова А. Н., Корнилова И. Г., Квеситадзе Э. Г. Биотехнология, 3, 152—168, 1987.

2. Остерман Л. А. В кн.: Методы исследования белков и нуклеиновых кислот. Электрофорез и ультрацентрифугирование, «Наука», М., 1981, 56—64.

3. Остерман Л. А. В кн.: Исследование биологических макромолекул электрофорезом, иммуноэлектрофорезом и

радиоизотропными методами, «Наука», М., 1983, 20—42.

4. Радионова Н. А., Тиунсва Н. А., Фениксова Р. В., Тимохин И. М., Финкельштейн М. В., Мартинович Л. И. Прикл. биохим. микробиол., 2, 197—205, 1966.

5. Bradford M. M. Anal. Biochem., 72, 249—254, 1976.

6. Nelson N. A. J. Biol. Chem., 153, 375, 1944.

7. Somogyi M. A. J. Biol. Chem., 160, 61, 1945,

TRICHODERMA REESEI-ის ცელულაზური კომპლექსის მინორული თერმომედიანი კომპონენტი

ე. კვესიტაძე, თ. ლომიტაშვილი

საქართველოს სსრ მეცნიერებათა აკადემიის მეცნიერთა ბიოქიმიის ინსტიტუტი, თბილისი

რეზიუმე

ცნობილ მეზოფილურ პროდუცენტ *Trichoderma reesei*-ის ცელულაზურ კომპლექსში აღმოჩენილი იქნა მინორული კომპონენტი ენდოგლუკანაზა, რომელიც წარმოქმნის აღმდგენელ შაქრებს მიკროკრისტალური ცელულოზისაგან. ფერმენტის ნახევრად ინაქტივაციის დრო

65°-ზე ჭარბი უხსნადი სუბსტრატის — მიკროკრისტალური ცელულოზის — მიმართ, ტოლია 21 სთ-ის, რაც თერმომედიაციის მიხედვით ათჯერ აღემატება ამ შტამის ცელულაზური კომპლექსის სხვა კომპონენტებს.

THERMOSTABLE MINOR COMPONENT OF TRICHODERMA RESEI CELLULASE COMPLEX

E. G. KVESITADZE, T. V. LOMITASHVILI

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

Summary

In cellulase complex of well known mesophilic producer *Trichoderma reesei* a minor component—endoglucanase was detected, forming reducing sugars from microcrystalline cellulose. The period of enzyme halfinactivation in the presence of

excess nonsoluble substrate of microcrystalline cellulase at 65°, is 21 hours, which more than ten times exceeds in thermostability other cellulase components from the same source.



УДК 547.962:577.112

БИОХИМИЯ

## ИССЛЕДОВАНИЕ СТРУКТУРНОЙ ОРГАНИЗАЦИИ $\alpha$ -АКТИНИНА БИФУНКЦИОНАЛЬНЫМИ РЕАГЕНТАМИ

Л. У. Русия, К. Ш. Куридзе, Н. Н. Бокочадзе, М. Ш. Симонидзе,  
М. М. Заалишвили

*Институт молекулярной биологии и биофизики АН ГССР, Тбилиси*

Поступила в редакцию 29.06.1988

Изучен ограниченный триптический гидролиз и биологическая активности поперечносвязанного  $\alpha$ -актинина. Установлено, что бифункциональным реагентом — диметилсуберимидатом поперечно связываются С-домены, N-домен с С-концом С-домена, нет швов между N-доменами. ДМСИ-обработанный  $\alpha$ -актинин теряет свою биологическую активность.

Мышечное сокращение — сложный процесс, осуществляемый высокоорганизованным аппаратом, функционирование которого зависит как от основных, так и от минорных белков. Одним из минорных белков является  $\alpha$ -актинин, представляющий собой гомодимер, причем объединение создает палочкообразную структуру [8]. Ранее нами было установлено, что  $\alpha$ -актинин, выделенный из поперечнополосатой мышцы кролика, имеет сложную молекулярную организацию — его полипептидная цепь уложена таким образом, что образует два крупных домена. Было показано, что в N-концевом домене расположен центр связывания с актином, а С-концевой домен обеспечивает димеризацию молекулы  $\alpha$ -актинина. На ос-

новании этого была предложена гипотетическая модель строения молекулы белка: субъединицы  $\alpha$ -актинина ориентированы антипараллельно, а N-концевые домены, располагаясь на противоположных концах молекулы, формируют участок связывания с актином [1].

Настоящая работа представляет собой часть комплексных исследований по выяснению структурной организации и механизма функционирования минорного белка  $\alpha$ -актинина. Цель данной работы — уточнение гипотетической модели  $\alpha$ -актинина с использованием бифункциональных реагентов; изучение свойств химически модифицированного  $\alpha$ -актинина и продуктов его трипсинолиза.

### МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

$\alpha$ -актинин получали из мышечного фарша кролика по методу Пинтер [7]. Актин получали по методу Спудича [9]. Электрофорез в градиенте полиакриламида в присутствии додецилсульфата натрия (ДСН) проводили по методу Лемли [5]. Реакцию поперечного связывания проводили по методике, приведенной в работе [4]. Непосредственно перед употреблением бифункционального реагента диметилсуберимидат (ДМСИ) растворяли в

0,2 М триэтанолгидрохлориде, pH 8,5. Умеренно высокое значение pH было выбрано из соображений благоприятствовать реакции амидизации. Растворы ДМСИ и белка смешивали таким образом, чтобы в объеме 500 мкл было 0,25 мг белка и 0,5 мг ДМСИ; реакционную смесь оставляли при комнатной температуре (18—22°C). В разное время брали аликвоты и реакцию останавливали добавлением 1М триглицинового буфе-

ра, рН 8,5. Аликвоты анализировали на акриламидном геле в присутствии ДСН. Денситограммы электрофореграмм снимали на лазерном денситометре фирмы ЛКВ и на основе полученных результатов судили о глубине внутримолекулярного связывания белка.

Ограниченный триптический гидролиз интактного и поперечносвязанного  $\alpha$ -актинина проводили в буфере 0,2 М триэтанолгидрохлорида, рН 8,5. Фермент — субстратное соотношение — 1:50, концентрация белка 0,5 мг/мл, температура 37°C; реакцию останавливали добавлением соевого ингибитора трипсина в соотношении 2:1 относительно трипсина (по весу).

## РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

Химическая модификация белков бифункциональными реагентами дает возможность оценивать расстояние между отдельными функциональными группами и судить о пространствен-

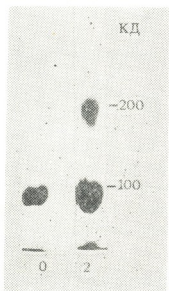


Рис. 1. Электрофорез в ПААГ в присутствии ДСН ДМСИ, обработанного  $\alpha$ -актинина. Цифры под фореграммой указывают время реакции в часах

ной структуре белковой молекулы. Известно, что в белках бифункциональные реагенты образуют поперечные связи с функциональными группами боковых цепей. Связывание может осуществляться как внутри од-

Влияние химически модифицированного  $\alpha$ -актинина на вязкость  $\Phi$ -актина изучали методом вискозиметрии. Для этой цели использовали вискозиметр Освальда. Эксперимент проводили следующим образом:  $\alpha$ -актинин в 0,2 М триэтанолгидрохлориде, рН 8,5, добавляли к  $\Gamma$ -актину в буфере: 2 мМ трис-НСl, 1 мМ  $\beta$ -МЭ, 2 мМ CaCl<sub>2</sub>, 0,2 мМ АТФ, рН 7,6. Концентрацию КСl доводили до 0,1 М и смесь представляли на 1 ч. Затем измеряли его удельную вязкость. Концентрация актина была 1,1 мг/мл, а количество  $\alpha$ -актинина 2% от веса актина. Вязкость  $\Phi$ -актина в присутствии нативного  $\alpha$ -актинина принимали за 100%, а в отсутствии — 0%.

ной молекулы, так и между молекулами белка. Поэтому в каждом исследуемом случае необходимо подбирать оптимальные условия модификации. Чтобы получить поперечносвязанный  $\alpha$ -актинин, мы использовали диметилсуберимидат — бифункциональный реагент, который образует шивки между боковыми аминогруппами белков. Для получения  $\alpha$ -актинина с внутримолекулярными шивками подбирали условия эксперимента (концентрацию белка, реакционный буфер, рН среды, температуру, концентрацию реагента, время реакции). В результате проведенных экспериментов было установлено оптимальное условие для поперечного связывания субъединиц  $\alpha$ -актинина бифункциональным реагентом (см. методы исследований) и достигнуто образование поперечных шивок в зависимости только от времени. При этом процент межмолекулярных шивок был пренебрежительно малым. На рис. 1 приведена электрофореграмма и показана кинетика образования поперечных шивок между субъединицами  $\alpha$ -актинина. Как видно из рисунка, через 15 мин от начала реакции в электрофореграммах появляется полоса, соответствующая молекулярной массе 200 кДа, что указывает на образование межсубъединичной шивки, так как при таких условиях немодифицированный  $\alpha$ -актинин движется полосой, соответствующей 100 кДа. В зависимости от

времени доля поперечносшитого белка в реакционной смеси увеличивается и достигает максимума через 6 ч, затем увеличение незначительно, а по истечении 24 ч реакция прекращается в связи с разрушением ДМСИ в водном растворе [4]. Максимальный выход реакции соответствует 70%. В электрофореграммах такого препарата наблюдаются две полосы, соответствующие субъединице  $\alpha$ -актинина (100 кДа) и молекуле  $\alpha$ -актинина (200 кДа). Нам не удалось разделить поперечносвязанный  $\alpha$ -актинин от интактного, и поэтому его трипсинолиз исследовали в присутствии нативного  $\alpha$ -актинина.

Известно, что при инкубации нативного  $\alpha$ -актинина с трипсином на разных стадиях трипсинолиза образуются

результаты исследования тепловой денатурации  $\alpha$ -актинина и его домена методом КД-спектроскопии [2] и кинетика трипсинолиза, в ходе которой укорачивание С-концевого домена с С-конца начинается только после удаления N-концевого домена от молекулы. При трипсинолизе поперечносвязанного  $\alpha$ -актинина N-концевой домен, как и в случае нативного  $\alpha$ -актинина, образуется в мономерной форме. Однако его молекулярная масса чуть выше, чем молекулярная масса N-концевого домена, образовавшегося при трипсинолизе нативного  $\alpha$ -актинина. Полученные результаты дают возможность предположить, что N-концевые домены  $\alpha$ -актинина не связываются между собой бифункциональными реагентами,

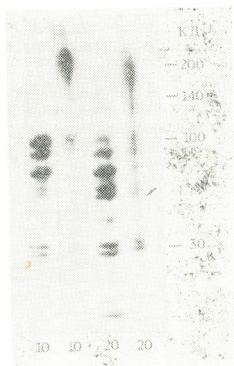


Рис. 2. Электрофорез в ПААГ в присутствии ДСН смеси продуктов триптического гидролиза нативного и поперечносвязанного  $\alpha$ -актинина. Цифры под фореграммой указывают время гидролиза в минутах

ся относительно стабильные промежуточные фрагменты, причем N-концевой домен образуется в мономерной форме, а С-концевой домен и продукты его расщепления — в димерной [3]. Домены  $\alpha$ -актинина на уровне третичной структуры взаимодействуют друг с другом, на что указывают

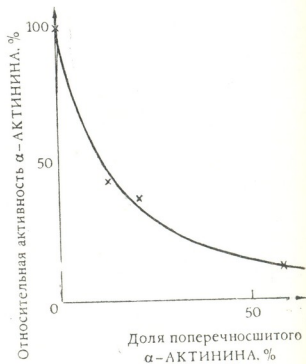


Рис. 3. Зависимость биологической активности  $\alpha$ -актинина от степени модификации диметилсуберимидатом

так как они расположены далеко друг от друга; бифункциональный реагент связывает N-концевой домен с С-концевым и после трипсинолиза белка маленькие фрагменты С-домена остаются соединенными с ним (рис. 2). Зная, что деградация С-концевого домена  $\alpha$ -актинина при нативном трипсинолизе начинается с С-кон-



ца, следует предположить, что С-концевая часть С-домена и N-концевой домен расположены в молекуле белка на таком расстоянии, что при химической модификации связываются бифункциональным реагентом. В электрограммах гидролизатов поперечносвязанного  $\alpha$ -актинина в денатурирующих условиях наблюдается образование полосы, соответствующей 130—140 кДа, которая, очевидно, является С-концевым доменом поперечносвязанным бифункциональным реагентом. Таким образом, ДМСИ, длина которого соответствует 11,2 Å, преимущественно соединяет С-концевые домены  $\alpha$ -актинина.

Известно, что бифункциональные реагенты часто стабилизируют белки, препятствуя разворачиванию полипептидной цепи и повышая жесткость их структуры. Мы предположили, что образование поперечных швов между N- и С-концевыми доменами  $\alpha$ -актинина могло повлиять на его конформацию и вызвать изменение

биологической активности. Тем более известно, что в N-концевом домене  $\alpha$ -актинина с актином, а в немывечных  $\alpha$ -актининах — петли для связывания ионов  $Ca^{2+}$ , которые регулируют активность белка, находятся в С-концевой части субъединицы  $\alpha$ -актинина [6]. И в самом деле, оказалось, что  $\alpha$ -актинин, обработанный бифункциональным реагентом, теряет свойство соединять поперечными мостиками Ф-актиновые нити. Из рис. 3 видно, что  $\alpha$ -актинин, подверженный пятичасовой обработке бифункциональным реагентом, почти не увеличивает вязкость Ф-актина. Создается впечатление, что в мышечном  $\alpha$ -актинине бифункциональные реагенты вызывают такой же эффект, что и ионы  $Ca^{2+}$  в немывечных  $\alpha$ -актининах, которые ингибируют взаимодействие последнего с актином. Наш вывод является гипотетическим и требует дальнейших исследований.

#### ЛИТЕРАТУРА

1. Куридзе К. Ш. Исследование структурной организации  $\alpha$ -актинина. Выделение и характеристика продуктов ограниченного трипсинолиза, Автореф. канд. дисс., Тбилиси, 1986.
2. Куридзе К. Ш., Веньяминов С. Ю., Симоидзе М. Ш., Надирашвили Н. Ш., Заалишвили М. М. Биохимия, 53, 6, 899—904, 1988.
3. Симоидзе М. Ш., Куридзе К. Ш., Надирашвили Н. Ш. Тез. всес. конф., посв. 50-летию Ин-та физиологии им. И. С. Бериташвили АН ГССР, Тбилиси, 1986, 58.

4. Grezy E., Davies and George R. Stark. Proceedings of the Nat. Academy of Sciences, 66, 3, 651—656, 1970.
5. Leamlly V. K. Nature, 227, 5259, 680—685, 1970.
6. Angelica Noegel, Walter Withe, Michael Schleicher, FEB, 221, 2, 381 — 386, 1987.
7. Pinter K., Janson A., Biro E. N. A. Acta Biochem. et Biophys. Acad. Sci. Hungarian, 227, 680—688, 1980.
8. Podlubnaya Z. A., Tskhovrebova L. A., Zaalishvili M. M., Stefanenko G. A. J. Mol. Biol., 82, 357—359, 1975.
9. Spudich J. A., Watt S. J. Biol. Chem., 276, 15, 4866—4871, 1971.

#### $\alpha$ -აქტინინის სტრუქტურული ორგანიზაციის შემწავლა ბიფუნქციური რეაგენტებით

ლ. რუსია, ა. ჭურჩია, ნ. ზოკოჩაძე, მ. სიმონიძე, მ. ჯაღონიძე

საქართველოს სსრ მეცნიერებათა აკადემიის მოლეკულური ბიოლოგიის და ბიოლოგიური ფიზიკის ინსტიტუტი, თბილისი

რეზიუმე

შესწავლილ იქნა ბიფუნქციური რეაგენტით — დიმეთილსუბერმიდატით (დმს) გადაბმული კუნთოვანი  $\alpha$ -აქტინინის შეზღუდული ტრიპსინული ჰიდროლიზი და ბიოლოგიური აქტივობა. დადგენილია,

რომ დმს-ი აკავშირებს ერთმანეთთან C-დომენებს, N-დომენს C-დომენის C-ბოლოსთან და არ აკავშირებს N-დომენებს. დმს-ით დამუშავებული აქტინინი კარგავს თავის ბიოლოგიურ აქტივობას.

# INVESTIGATION OF STRUCTURAL ORGANIZATION OF $\alpha$ -ACTININ USING BIFUNCTIONAL REAGENTS

L. U. RUSIA, K. Sh. KURIDZE, N. N. BOKOCHADZE, M. Sh. SIMONIDZE,  
M. M. ZAALISHVILI

Institute of Molecular Biology and Biological Physics, Georgian Academy of Sciences,  
Tbilisi, USSR

## S u m m a r y

Limited tryptic hydrolysis cross-linking reagent-dimethyl-suberimidate (DMSI) treated  $\alpha$ -actinin and its biological activity have been studied. The results obtained lend support to the supposition

that C-domains, N-domain with C-terminal of C-domain are linked with each other by DMSI while N-domains are not.  $\alpha$ -actinin when treated by DMSI loses its biological activity.



УДК 615.015.154:616.6—092.9

ФАРМАКОЛОГИЯ

## ФАРМАКОКИНЕТИКА ЭНДОЛИМФАТИЧЕСКИ ВВЕДЕННОГО ГЕНТАМИЦИНА В МОЧЕПОЛОВЫХ ОРГАНАХ СОБАКИ

И. В. Джанелидзе, В. Д. Бабухадия

Тбилисский государственный медицинский институт

Поступила в редакцию 29.12.87

Изучали фармакокинетику гентамицина в мочеполовых органах 12 собак при его вливании в периферическую лимфатическую систему. В контрольной группе (6 собак) препарат вводили внутримышечно. Антибиотик применяли из расчета 1 мг/кг — минимальная суточная доза для взрослого человека. При определении содержания препарата в тканях был использован метод диффузии в агар. В качестве тест-микроба служил *Bacillus subtilis* ATCC 6633. Материал для исследования брали спустя 1, 4 и 24 ч. Сравнительная оценка концентраций гентамицина в тканях почки, простаты и яичка показала, что содержание препарата в этих органах, как правило, выше при эндолимфатическом введении. Кроме того, этот путь введения, в отличие от внутримышечного метода, способен поддерживать на достаточном уровне концентрацию гентамицина в мочеполовых органах до 24 ч.

В последние годы в клиническую практику стала внедряться эндолимфатическая антибиотикотерапия [1, 3, 5]. Более широкому распространению нового метода препятствует то обстоятельство, что не в полной мере изучены его фармакологические аспекты. В литературе имеются данные о содержании антибиотика в сыворотке крови, лимфе, моче при введении препарата в лимфатическую систему [1, 3, 6].

Однако для эффективного антибактериального лечения воспалительных

заболеваний имеет значение не столько уровень концентрации антибиотика в сыворотке крови, сколько его содержание непосредственно в пораженном органе [4, 7, 8, 9].

В связи с этим мы сочли интересным в эксперименте на животных изучить концентрацию антибиотика в тканях мочеполовых органов (почки, яичко и простата) при эндолимфатическом введении препарата. Для контроля использовали внутримышечное введение того же антибиотика

### МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Эксперименты проводились на беспородных собаках-самцах весом 10,5—16,5 кг. Нам пришлось довольствоваться минимальным числом опытов, так как они были острыми. Для вводного наркоза в плевральную полость животных вводили 2%-ный раствор тиопентал-натрия из расчета 1 мл на кг веса. Собак забивали двойной дозой тиопентала натрия.

После предварительной катетеризации коллекторного лимфатического сосуда задней конечности тонким полиэтиленовым катетером в лимфатическую систему вводили препарат, растворенный в 5 мл 0,5%-ного раствора новокаина со скоростью 0,5—0,7 мл/мин.

Опыты проведены на 18 собаках. Эндолимфатический метод введения изучался нами на 12 животных: у

при внутримышечном введении ( $p > 0,1$ ), но уже спустя 4 ч — при эндолимфатическом введении ( $p > 0,05$ ). Через 24 ч при новом методе введения определяются субтерапевтические уровни гентамицина в почке; он отсутствует при внутримышечных инъекциях.

лимфатических инфузий ( $0,62 \pm 0,05$  мкг/г).

Данные о концентрации гентамицина в яичке при однократном новом и традиционном способах введения представлены на рис. 3.

Из рисунка следует, что концентрация препарата в яичке при обоих ме-

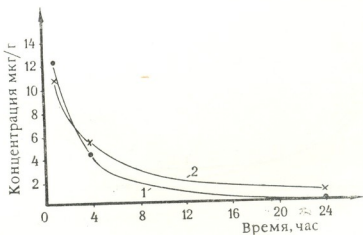


Рис. 1. Динамика концентрации гентамицина в почке у собак после однократного эндолимфатического (1) и внутримышечного (2) введения в дозе 1 мг/кг

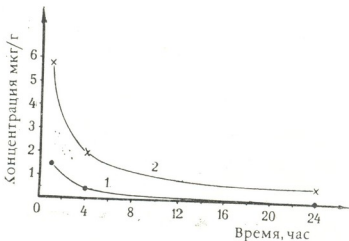


Рис. 2. Динамика концентрации гентамицина в простате собак после однократного эндолимфатического (1) и внутримышечного (2) введения в дозе 1 мг/кг

Анализируя данные рис. 2, мы можем констатировать, что при эндолимфатическом введении гентамицина его концентрация в простате превышает таковую при внутримышечном введении через 1 ч от начала исследования более чем в 2 раза ( $p < 0,01$ ), через 4 ч — почти в 3 раза ( $p < 0,05$ ). Через 1 сутки концентрация антибиотика определяется только при эндо-

тодах введения почти одинакова с той лишь разницей, что через 24 ч при первом способе она составляет  $0,72 \pm 0,03$  мкг/г, а при внутримышечном — не определяется.

Таким образом, сравнительная оценка концентраций гентамицина в тканях почки, простаты и яичка при однократных эндолимфатической инфузии и внутримышечных инъекциях в дозе 1 мг/кг позволяет заключить,

что содержание препарата в этих органах, как правило, выше при эндолимфатическом введении.

Кроме того, эндолимфатический путь введения гентамицина, в отли-

тальных исследований по определению уровня концентрации гентамицина в мочеполовых органах, следует утверждать, что эндолимфатическая антибиотикотерапия может оказаться

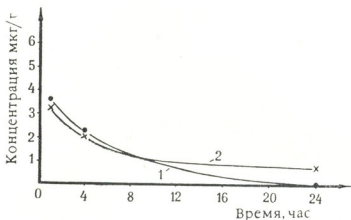


Рис. 3. Динамика концентрации гентамицина в яичке собак после однократного эндолимфатического (1) и внутримышечного (2) введения в дозе 1 мг/кг

чие от внутримышечного метода, способен поддержать субтерапевтическую дозу антибиотика в мочеполовых органах в течение 24 ч.

Учитывая результаты эксперимен-

тальным методом в комплексе лечебных мер неспецифических воспалительных заболеваний мочеполовой системы.

## ЛИТЕРАТУРА

1. Ермолов А. С., Иванов В. А., Григорян А. Р., Васина Т. А. Хирургия, 4, 39—43, 1984.
2. Навашин С. М., Фомина И. П. Рациональная антибиотикотерапия, «Медицина», М., 1982.
3. Панченков Р. Т., Выренков Ю. Е., Ярема И. В., Щербакова Э. Г. Эндолимфатическая антибиотикотерапия, «Медицина», М., 1984.
4. Родоман В. Е. В сб.: Актуальные вопросы неотложной урологии, Ростов н/Д, 1983, 63—70.

5. Слущкин И. М., Долгин М. Р. Антибиотики и мед. биотехнология, I, 49—52, 1986.
6. Стащук В. Ф., Уца В. В. Анестезиология и реаниматология, 4, 48—50, 1981.
7. Тодоренко А. Д. В сб.: Антибактериальная терапия в урологии и нефрологии, Киев, 1979, 39—43.
8. Schmitt W. In: Chirurgie der Infektionen, Leipzig, 1981, 130—143.
9. Watanabe T., Komiya L., Miyachi K. Chemotherapie (Tokyo), 32, 511—515, 1984.

ენდოლიმფატურად შეყვანილი გენტამიცინის ფარმაკოკინეტიკა ძალის უარდსასქესო ორგანოებში

ი. ჯანელიძე, ვ. ზაბუზაძე

თბილისის სახელმწიფო სამედიცინო ინსტიტუტი

რეზიუმე

12 ძალის უარდსასქესო ორგანოებში შესწავლილ იქნა პერიფერულ ლიმფურ სისტემაში შეყვანილი გენტამიცინის ფარ-

მაკოკინეტიკა. საკონტროლო ჯგუფში (6 ძალის) პრეპარატის შეყვანა ზორციელდებოდა კუნთებში. ანტიბიოტიკის რაო-



დენობის გამოანგარიშება ხდებოდა 1 მგ/კგ დოზიდან გამომდინარე. ქსოვილებში პრეპარატის შემცველობის განსაზღვრისათვის გამოყენებულ იქნა აგარში დიფუზიის მეთოდი. გამოკვლევისათვის მასალის აღება ხდებოდა 1,4 და 24 სთ-ის შემდეგ. თირკმლის, პროსტატის და სათესლე ჯირკვლის ქსოვილში გენტამიცი-

ნის კონცენტრაციის შედარებითმა ანალიზმა აჩვენა, რომ ამ ორგანოებში პრეპარატის შემცველობა, როგორც წესი, უფრო მაღალი იყო ენდოლიმფური ინფუზიისას. ამის გარდა, შეყვანის ამ გზის გამოყენებისას ანტიბიოტიკის შემცველობა შარდსასქესო ორგანოებში პროლონგირებული იყო 24 საათამდე.

## PHARMACOKINETICS OF ENDOLYMPHATICALLY ADMINISTERED GENTAMYCIN IN THE DOG'S GENITOURINARY ORGAN

I. V. JANELIDZE, V. D. BABUKHADIA

Tbilisi State Medical Institute, USSR

### Summary

The pharmacokinetics of gentamycin in genitourinary organs of 12 dogs has been studied, following its administration in the peripheral lymphatic system. In the control group (6 dogs) the drug was administered intramuscularly. Gentamycin was used in 1mg/kg dosage. The method of diffusion in the agar was used for the determination of drug concentration in various tissues. The material for investigation was taken after 1,4 and 24

hours. The comparative evaluation of gentamycin concentrations in the tissues of kidney, prostate and testicle showed that its content in the organs was, as a rule, higher after endolymphatic administration of the drug. In contrast to intramuscular administration, this method enables to maintain the concentration of gentamycin in the genitourinaries at the sufficient level during 24 hours.

УДК 612.017.1

ИММУНОЛОГИЯ

## ВЛИЯНИЕ ИНТЕРФЕРОНА НА РАЗВИТИЕ ТУБЕРКУЛЕЗНОЙ ИНФЕКЦИИ В КЛЕТОЧНЫХ КУЛЬТУРАХ

Н. М. Окуджава, В. И. Бахуташвили, Б. М. Корсантия

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

Поступила в редакцию 30.06.88

Микобактерии туберкулеза проникали в цитоплазму диплоидных клеток и размножались внутриклеточно. В клетках, находящихся под защитой интерферона, задерживалось цитопластическое действие микобактерий и существенно угнеталась внутриклеточная репродукция возбудителя. Интерферон стимулировал фагоцитарную активность мышечных перитонеальных клеток и угнетал размножение микробов в цитоплазме макрофагов. Микобактерии туберкулеза обладали слабой интерферогенной активностью в клеточных культурах.

Внутриклеточное размножение микобактерий является одним из основных звеньев патогенеза и иммуногенеза туберкулеза. С помощью клеточных культур удалось понять некоторые интимные механизмы инвазии микобактерий через клеточную мембрану и их размножение в цитоплазме клеток. Причем, в зависимости от типа клеток, был выявлен путь заражения либо активным фагоцитозом инфекционного агента [8], либо проникновением микобактерий туберкулеза в нефагоцитирующие клетки [4].

Известно, что при взаимодействии вирусов и бактерий с клетками происходит стимуляция сложных процессов, направленных на защиту клеток, и, в частности, индуцируется система интерферона. Способность бактерий и выделенных из них продуктов активировать образование интерферона была установлена многими авторами при заражении животных [2, 18]. Несколько противоречивы сведения, касающиеся индукции интерферона в клеточных культурах под воздействием указанных агентов [3, 5, 13], однако доказана способность макрофагов формировать интерферон [7].

Большой интерес приобретает вопрос о непровирусном действии

интерферона вообще и против бактериальных инфекций, в частности. Сведения о защитном действии интерферона и его индукторов имеются в отношении бактерий, грибов, простейших риккетсий и хламидий. В присутствии интерферона клеточные культуры оказались более устойчивыми как в отношении дифтерийного и стафилококкового экзотоксинов, так и сальмонеллезного эндотоксина [9]. Интерферон подавлял внутриклеточное размножение шигелл [10], микобактерий [15], возбудителя дифтерии [16].

В предыдущих наших исследованиях [4] с помощью цитраферной микрокиносъемки, фазово-контрастной и электронной микроскопии было показано, что микобактерии туберкулеза (только вирулентные штаммы) обнаруживались в цитоплазме диплоидных клеток человека, они размножались и вызывали цитопатический эффект. Внедрение микобактерий в клетки происходило со стороны отростков клетки или в точках межклеточных связей, после разрушения которых микробы могли проникать внутрь клетки. Наблюдался также переход микобактерий из одной клетки в другую контактным путем. Убитые микобактерии теряли способность





проникать в клетки. В связи с этим представляло интерес изучить интерферогенную активность микобактерий туберкулеза, а также возможность ис-

пользования препаратов интерферона для защиты клеточных культур и перитонеальных макрофагов от туберкулезной инфекции.

## МЕТОДИКА

Культуру диплоидных клеток человека (ДКЧ) из ткани легких человеческого плода (штамм Л-64, 25 пассаж) пассировали при 37°C в пробирках с покровными стеклами. Для заражения использовали лабораторный штамм НЗР микобактерий туберкулеза, который вызывал каталитическую активность и кордфактор, был чувствителен к стрептомицину, тубазиду, ПАСК, этионамиду, рифампицину и этамбутолу. Клетки ДКЧ заражали микобактериями из расчета 3—4 бактерии на клетку. Причем до заражения клетки дважды отмывали и затем культивировали в среде Игла, не содержащей сыворотки и антибиотиков. Через различные сроки после заражения клетки на покровных стеклах фиксировали в жидкости Буэна и окрашивали по Цилю-Нильсену. В контрольные пробирки вносили убитые прогреванием (100°C — 5 мин) микобактерии, а также туберкулин. Содержание интерферона в культуральной жидкости определяли титрованием проб в первичных человеческих фибробластах методом за-

держки цитопатического действия индикаторного вируса.

Перитонеальные клетки получали из брюшной полости мышей после инъекции 5 мл среды Игла с гепарином. Клетки центрифугировали 10 мин при 2000 об/мин и ресуспендировали в среде Игла с сывороткой. По 1,0 мл суспензии перитонеальных клеток (10<sup>6</sup> клеток) заливали в пробирки с покровными стеклами и культивировали при 37°C.

Противомикробное действие плаферона изучали введением в пробирки с культурой ДКЧ или перитонеальными клетками препарата с активностью в 2000 МЕ/мл. В параллельных опытах перитонеальные клетки обрабатывали также гомологичным мышинным интерфероном (активность 2000 ед/мл). Через 24 ч после интерферона клетки отмывали и заражали микобактериями; культивирование осуществляли в среде Игла при 37°C. Через различные сроки подсчитывали количество инвазированных (ДКЧ — табл. 1) или фагоцитирующих (макрофаги — табл. 3) клеток.

## РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

Через 3 ч после заражения диплоидных клеток микобактериями наблюдалась адсорбция микробов на поверхности клеток, выявлено экстрацеллюлярное деление микобактерий и единичные микробы в цитоплазме (в среднем 0,9). Через 24 ч в цитоплазме было обнаружено от 1 до 4 микобактерий (в среднем 2,4). Через 48 ч около 25% клеток монослоя было инфицировано, а на 4—5 сутки происходило почти полное разрушение культуры ДКЧ. Внутриклеточное расположение микобактерий определялось по их локализации в фагосомах клетки, а также четкостью микробов и всех элементов клетки при одинаковой глубине резкости.

Титрование культуральной жидкости на интерферон показало, что микобактерии туберкулеза индуцировали в ДКЧ продукцию интерферона,

активность которого не превышала 8 ед/мл в первые 24 ч после заражения. В последующие сроки, в связи с начинающейся деструкцией клеток, интерферон уже не обнаруживался. Интересно отметить, что инактивированные прогреванием микобактерии не вызывали цитопатического эффекта и при этом стимулировали более активную продукцию интерферона (24—32 ед ед/мл) в первые часы после заражения (табл. 2). Наиболее активным в этом отношении оказался туберкулин, который индуцировал до 128 ед/мл интерферона. Аналогичный пример можно найти в вирусологических исследованиях, где была показана четкая корреляция между патогенностью вируса для клеток и интенсивностью продукции интерферона [6].

Влияние плаферона на размножение микобактерий туберкулеза в культуре ДКЧ

Опыт	Показатели инфекции в указанные часы				
	3	12	24	48	96 — 120
Контроль	— 0 0	— 0,6 1,2 (1—3)	+ 8,4 2,4 (1—4)	++ 25,0 6,8 (3—12)	+++ 100 н. д.
Плаферон	— 0 0	— 0,2 0	— 6,8 1,4 (1—3)	— 23,0 2,3 (1—5)	++ 86,2 14,3 (7—29)

Обозначение: сверху вниз—степень деструкции клеток (+); индекс инвазии (%); среднее количество микробов в клетках и пределы колебаний

Механизм образования интерферона, индуцированного микробами или их продуктами, еще мало изучен. Имеются данные, свидетельствующие о способности бактериальных эндотоксинов (как и вирусов) индуцировать синтез интерферона путем депрессии соответствующего цистрона [11, 17], а также мнение о множественности происхождения интерферо-

Аналогичные результаты были получены при изучении фагоцитарной активности мышинных перитонеальных клеток, обработанных интерфероном. Оказалось, что интерферон стимулировал интенсивность фагоцитоза и через 6 ч после заражения в 80—90% клеток были обнаружены единичные микобактерии. В эти же сроки в контрольных клетках фагоци-

Таблица 2

Продукция интерферона в ДКЧ, зараженных микобактериями туберкулеза

Индукторы	Активность интерферона в указанные часы ( в ед/мл)					
	3	6	12	24	48	96
Микобактерии	4	8	8	2	0	0
Убитые	32	24	0	0	0	0
Туберкулин	128	64	8	8	0	0

Примечание: в указанные часы из пробирок собирали всю культуральную жидкость, которую заменяли свежей средой

нов, синтезируемых в ответ на введение бактериальных липополисахаридов [7, 12, 14].

При обработке ДКЧ плафероном отмечена некоторая задержка цитопатического эффекта, вызванного микобактериями туберкулеза. Введение препарата не сопровождалось достоверным защитным эффектом в отношении способности и интенсивности микобактерий инвазировать в клетки (табл. 1). Однако следует признать важным тот факт, что в диплоидных клетках, находящихся под защитой интерферона, было существенно угнетено внутриклеточное размножение микобактерий, без влияния на экстрацеллюлярные микробы.

тарное число достигало 45% (табл. 3). В последующем происходил активный фагоцитоз почти во всех клетках, обработанных интерфероном; в контрольных макрофагах через 12 ч инфекции этот показатель все еще не превышал 75%. Интересно отметить, что максимальная активация фагоцитоза была отмечена при использовании гомологичного мышинного интерферона. Этот вид интерферона угнетал также размножение возбудителя в цитоплазме клеток (фагоцитарный индекс—9,6). При использовании плаферона этот показатель оказался выше (19,3), т. е. гетерологичный ин-

Влияние интерферона на фагоцитоз микобактерий туберкулеза перитонеальными макрофагами

Препарат	Показатели фагоцитоза в указанные часы			
	6	12	24	48
Контроль	45—2,2	74—4,5	93—12,8	95—28,5
Плаферон	82—3,5	85—4,2	90—8,3	92—19,3
Мышиный ИФН	90—3,6	96—5,3	95—5,5	94—9,6

Обозначение: фагоцитарное число (%) и фагоцитарный индекс

терферон также обладал иммуномодулирующим воздействием на мышинные макрофаги (в контроле индекс инвазии — 28,5).

Относительно механизма противомикробного действия интерферона все еще нет единого мнения. Предполагается, что интерферон воздействует на собственный белок-синтезирующий аппарат паразита или ингибирует рибосомальный комплекс зараженных клеток, указывающих на увеличение ак-

тивности лизосом, под воздействием интерферона, что стимулирует интенсивное переваривание внутриклеточных микробов [1, 3]. В наших исследованиях на двух различных моделях (перевиваемая клеточная культура и макрофаги) было четко показано непротивовирусное действие плаферона, который обладал способностью угнетать внутриклеточное размножение микобактерий туберкулеза, а также активировать фагоцитоз.

ЛИТЕРАТУРА

1. Амченкова А. М. В кн.: Образование и действие интерферона, Рига, 1972, 279—285.
2. Верезуб Л. Г. В кн.: Вакцины и сыворотки, Киев, 8, 1974, 112—115.
3. Мачавариани М. Г. Иммуномодулирующие и противомикробные эффекты плаферона, Автореф. канд. дисс., Тбилиси, 1988.
4. Окуджава Н. М., Бахуташвили В. И. Изв. АН ГССР, сер. биол., 2, 5, 446—452, 1976.
5. Приймаги Л. С. Акта вирусологии, 2, 85—89, 1970.
6. Смородинцев А. А. Теория и практика интерферона, Автореф. докт. дисс., Л., 1969.
7. Соловьев В. Д., Бектимиров Т. А. В кн.: Интерфероны в теории и практике медицины, М., 1981.
8. Хейфец Л. Б., Староверова Н. С., Козлова Н. Е. ЖМЭИ, 10, 3—7, 1974.
9. Ябров А. А. Успехи совр. биологии, 74, 1, 97—120, 1972.
10. Gober L. Infect. Immunol., 5, 370—376, 1972.
11. Ho M. 9. Infect. Dis., 133, 30—36, 1976.
12. Ito Y. Virology, 52, 439—446, 1973.
13. Lackovic V., Borecky L. Acta Microbiol., 15, 78—83, 1978.
14. Maehara N., Ho M. Infect. Immunol., 19, 235—236, 1975.
15. Mizunoe K. Jap. J. Microbiol., 5, 148—151, 1973.
16. Moehring J. Proc. Soc. Exp. Biol., 138, 1009—1014, 1971.
17. Smith T. Proc. Soc. Exp. Biol., 142, 481—486, 1973.
18. Stinebring W., Youngner J. Nature, 204, 712—714, 1964.
19. Vilecek J. J. Infect. Dis., 133, 22—29, 1976.



# ინტერფერონის მოქმედება ტუბერკულოზის ინფექციაზე უჯრედის კულტურებში

ნ. ოკუჯავა, ვ. ბახუტაშვილი, ბ. კორსანტია

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

## რ ე ზ ი უ მ ე

აღინიშნა ტუბერკულოზის მიკობაქტერიის უჯრედშიდა გამრავლება დიპლოიდური უჯრედების ციტოპლაზმაში. უჯრედებში, რომლებიც იმყოფებოდნენ პლაცენტარული ინტერფერონის (პლაფერონის) დაცვის ქვეშ, მიკობაქტერიების ციტოპათური ეფექტი, ისევე, როგორც გამომწვევის უჯრედშიდა რეპროდუქცია, მნიშვნელოვნად იყო დათრგუნვილი. ინ-

ტერფერონი იწვევდა თავის პერიტონიალური უჯრედების ფაგოციტური აქტივობის სტიმულაციას და თრგუნავდა მიკრობების გამრავლებას მაკროფაგების ციტოპლაზმაში. ტუბერკულოზის მიკობაქტერიები ამჟღავნებდნენ სუსტ ინტერფერონოგენულ აქტივობას უჯრედის კულტურებში.

## THE INFLUENCE OF INTERFERON ON TUBERCULOSE INFECTION IN CELL CULTURES

N. M. OKUJAVA, V. I. BAKHUTASHVILI, B. M. KORSANTIA

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

## S u m m a r y

The intracellular reproduction of *M. tuberculosis* in the cytoplasm of diploid cells was observed. In the cells under placental interferon (plaferon) protection cytopathic effect of mycobacteria as well as intracellular reproduction of the agent

were depressed. Interferon stimulated the activity of the peritoneal cells of mice and depressed the reproduction of *M. tuberculosis* in the cytoplasm of macrophages. *M. tuberculosis* revealed slight interferonogenic activity in cell cultures.

УДК 547.962.577.156

БИОФИЗИКА

## ФИБРИЛЛОГЕНЕЗ ЭВОЛЮЦИОННО РАЗЛИЧАЮЩИХСЯ КОЛЛАГЕНОВ

Т. В. Бурджанадзе, М. О. Бежитадзе, А. Г. Гиоргадзе,  
Г. М. Бабакишвили

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

Поступила в редакцию 10.03.88

Изучены активационные параметры фибриллообразования эволюционно различающихся коллагенов. Показано, что в прогреваемом растворе образование фибрилл коллагенов различного происхождения протекает в различных температурных областях, сопряженных с температурой среды обитания вида. Измерены энтальпия и свободная энергия активации фибриллообразования. Полученные данные свидетельствуют о том, что фибриллообразованию предшествует конформационная перестройка молекулы. Обсуждается биологическое значение соответствия температуры денатурации с верхним пределом температуры среды обитания вида. Указанное соответствие является предельным выражением функциональной зависимости конформационной гибкости от температуры. Осуществляемый в эволюции направленный отбор по температурной стабильности необходим для поддержания скорости биосинтеза коллагена на постоянном уровне.

Соответствие температуры денатурации коллагена с верхним пределом температуры среды обитания вида следует отнести к наиболее яркому примеру эволюционной адаптации биологических макромолекул [10]. Несмотря на множество примеров, подтверждающих это соответствие, до сих пор нет ясного представления о биологическом значении этого факта, и тем более о физическом и биологическом механизмах, осуществляющих указанное соответствие.

Относительная независимость скоростей многих биохимических реакций при изменении температуры среды обитания вида, известная в литературе как **эволюционная компенсация** температуры, является основным положением стратегии биохимической адаптации [5]. Поэтому совершенно естественным кажется предположение, что биологический смысл указанного подстраивания температуры денатурации надо искать не только

5. Серия биологическая, т. 15, № 3

путем изучения термодинамических параметров денатурации коллагенов различного происхождения, как это делалось ранее [6, 8], но и путем изучения кинетических параметров обмена коллагена, а главным образом изучением кинетических параметров биосинтеза коллагенов различного происхождения.

Судя по имеющим представлениям биосинтеза коллагена [9], начинающегося с процесса образования полипептидных цепей и заканчивающегося самопроизвольной сборкой коллагеновых фибрилл, по крайней мере, последняя ступень этого процесса из-за самопроизвольности должна быть в значительной степени подвержена температурному воздействию. Поэтому не исключено, что ключ к пониманию механизма направленного отбора по температурной стабильности лежит в сохранении температурно-временных параметров формирования соединительной ткани, игра-



ющей важную роль в процессах роста и развития организма на ранних стадиях жизни.

Образование коллагеновых фибрилл *in vitro* широко используется как удобная модель для изучения фибриллообразования *in vivo* [11]. Структурная тождественность фибрилл, образуемых в растворе и клетке, дает основание для предположе-

ния, что процессы, протекаемые в растворе, принципиально не отличаются от таких же в живых системах и дает возможность всестороннего изучения механизма фибрилlogenеза, включая и изучение кинетических параметров фибриллообразования эволюционно различающихся коллагенов.

## МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ

Изучались активационные параметры фибрилlogenеза коллагенов, выделенных из кожи крысы, лягушки (*R. ridibunda*), катрана (*Squalus acanthias*), черноморской камбалы и плавательного пузыря карпа (*Cyprinus carpio*), существенно различающихся между собой по термостабильности. Белок получали по известной методике [7]. Фибрилlogenез изучали спектрофотометрическим методом на СФ-26 при 313 нм по помутнению раствора. Изменение оптической плотности регистрировали самописцем КСП-4. Температуру в термостатируемой

кювете поддерживали с точностью 0,05° и измеряли непосредственно в кювете с помощью термосопротивления. Кривые плавления снимали на автоматическом поляриметре «Полапат» (Карл Цейсс) с угловым разрешением 0,005° при 546 нм. Концентрацию белка определяли по известным величинам удельной оптической активности [2]. Условия получения фибрилл были такие же, как и в работе [11]. Процесс образования коллагеновых фибрилл изучали при равномерном прогреве раствора и в изотермическом режиме.

## РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Как известно, полное изменение оптической плотности ( $\Delta D$ ) за счет преципитации коллагена линейно зависит от исходной концентрации белка

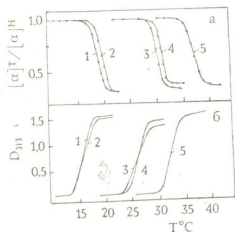


Рис. 1. Зависимость: а—относительного изменения оптической активности от температуры для коллагенов различного происхождения, ( $\text{CH}_3\text{COOH}$ , pH 3.7; концентрация белка 1.5 мг/мл; скорость прогрева 1°/60 мин); б—оптической плотности от температуры (концентрация белка 1,5 мг/мл); 1—катран, 2—камбала, 3—лягушка, 4—карип, 5—крыса

[11]. Поэтому на любом участке кривой фибриллообразования оптическая плотность пропорциональна доли молекул, вошедших в реакцию. Концентрационная зависимость постоянной времени делает необходимым проведения экспериментов при фиксированной концентрации белка для всех коллагенов. Все эксперименты были проведены с 0,075%-ными растворами.

На рис. 1 представлены кривые плавления и кривые изменения оптической плотности для коллагенов различного происхождения в условиях равномерного прогрева раствора (1°/60 мин). Образование фибрилл в таком режиме опыта дает возможность быстро оценить оптимальную температурную область фибриллообразования. Если ввести некую условную температуру фибриллообразования  $T_{\phi}$  как величину, характеризующуюся половинным значением оптической плотности, то, как видно из рис. 2, наблюдается строгая корреляция между  $T_{\phi}$  и температурой денатурации ( $T_d$ ) определенной поля-

риметрическим методом для растворов при pH 3.7.

Заметное влияние на оптимальную температурную область фибриллообразования оказывает pH. Снижение pH от 7,0 до 6,2 приводит к увеличению  $T_{\phi}$  на 4°C, а уменьшение скорости прогресса в 5 раз снижает  $T_{\phi}$  на 2°C, но при этом линейная зависимость между  $T_{\phi}$  и  $T_d$  сохраняется.

На рис. 3 приведены кривые изменения оптической плотности фибриллообразования коллагена кожи катрана в изотермическом режиме при различных температурах. Аналогичные кривые были сняты для осталь-

без какой-либо закономерности. Энергия активации не зависит от pH, однако свободная энергия активации, определенная по формуле Эйринга [3], с ростом термостабильности коллагена увеличивается в среднем от 22,0 до 23,5 ккал/моль (рис. 5).

Расчет термодинамических параметров активации был проведен без учета вклада отдельных стадий в суммарный процесс, однако такой метод подсчета оставляет вне поля зрения вопрос о роли нуклеации в определении термодинамических параметров активации. Если данные представить в виде зависимости D от  $\ln t$ , то уда-

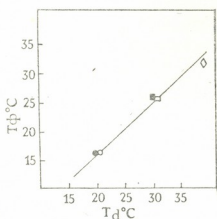


Рис. 2. Зависимость условной температуры фибриллообразования ( $T_{\phi}$ ) от температуры денатурации ( $T_d$ ), ●—катран, ○—камбала, ■—лягушка, □—каarp, ◇—крыса

ных коллагенов при двух значениях pH 6,2 и 7,0. Из рисунка видно, что изменение оптической плотности протекает в две стадии: стадия нуклеации, не сопровождающаяся изменением оптической плотности, и стадия роста фибрилл с нарастающим изменением оптической плотности. Обе стадии температурнозависимые, с положительным температурным коэффициентом. Постоянная времени фибриллообразования определялась по половинному значению изменения оптической плотности.

На рис. 4 приведены аррениусовские графики для коллагенов различного происхождения. Вычисленные из них значения энергии активации варьируют в пределах 63—90 ккал/моль

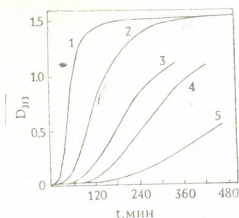


Рис. 3. Зависимость оптической плотности процесса фибриллообразования от времени для коллагена из кожи катрана при различных температурах: 1—14, 2°C; 2—11, 9°C; 3—11, 3°C; 4—10, 2°C; 5—9, 8°C; концентрация белка 1,5 мг/мл

ется выделить процесс нуклеации от процесса роста фибрилл [11]. На рис. 6 данные для коллагенов из кожи катрана представлены в виде такой зависимости. Из рисунка видно, что с увеличением температуры, при которой идет фибриллообразование, кривая, смещается влево, не изменяя при этом характера. Приведенные кривые удовлетворяют соотношению:  $\ln t_n(T_1) - \ln t_n(T_2) = \ln t_n(T_2) - \ln t_n(T_2)$ , где  $t_n$ ,  $t_h$  — времена полного процесса и нуклеации, соответственно при температурах  $T_1$  и  $T_2$ , откуда следует, что

$$E_a^{\#}(\text{нукл}) = E_a^{\#}(\text{пол.}); \Delta F^{\#}(\text{нукл}) = \Delta F^{\#}(\text{пол.})$$

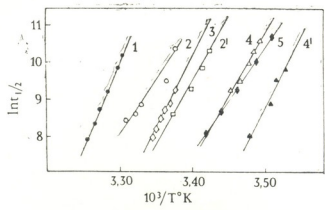


Рис. 4. Аррениусовские графики фибриллообразования для коллагенов различного происхождения: 1 — крыса (рН 7,0), 2, 2' — карп (рН 6,2 и 7,0), 3 — лягушка (рН 7,0), 4, 4' — катран (рН 6,2 и 7,0), 5 — камбала (рН 6,2)

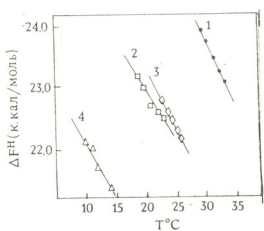


Рис. 5. Зависимость свободной энергии активации процесса фибриллообразования от температуры при рН 7,0: 1 — крыса, 2 — карп, 3 — лягушка, 4 — катран

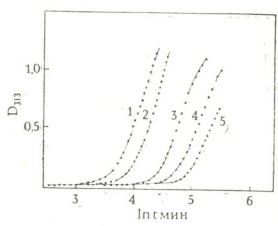


Рис. 6. Зависимость оптической плотности от логарифма времени для коллагена из кожи катрана: 1 — 14, 2°C; 2 — 11, 9°C; 3 — 11, 3°C; 4 — 10, 2°C; 5 — 9, 8°C; концентрация белка 1,5 мг/мл

С помощью такого анализа экспериментальных кривых удалось показать, что отношение свободных энергий активации нуклеации и роста фибрилл для всех образцов коллагена

на с точностью 1% равны между собой, что дает основание предположить, что нуклеация и рост имеют одну и ту же физическую природу.

### ОБСУЖДЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ

Полученные результаты четко показывают, что коллагены, различающиеся по термостабильности, в прогреваемом растворе (в 0,1 M NaCl рН 7,0) образуют фибриллы нативного типа в температурных областях, сопряженных с температурой денатурации, причем температура фибриллообразования ниже температуры

денатурации. Строгое соответствие оптимальной температурной области фибриллообразования с температурой денатурации коллагена свидетельствует о необходимости оптимальной конформационной гибкости молекулы коллагена, и вкладывает конкретный биологический смысл в ранее полученные результаты относительно не-

зависимости гиббсовской свободной энергии микроскопического раскрытия кооперативного участка от физиологической температуры [8]. На основании полученных результатов можно заключить, что соответствие температуры денатурации коллагена с верхним пределом температуры среды обитания вида [10] является предельным выражением функциональной зависимости конформационной гибкости от температуры и может не иметь самостоятельного биологического значения.

Аррениусовские энергии активации фибриллообразования варьируют в значительных пределах. Эти вариации могут быть следствием гетерогенности исследуемых систем. Известно, что растворы коллагена характеризуются межмолекулярной гетерогенностью, обусловленной межцепочечными связями внутри спирали. Такая гетерогенность накладывает свои условия на распределение молекул по термостабильности и влияет на ширину кооперативного перехода [4], поэтому не исключено, что такая система может характеризоваться значительной вариабельностью энергии активации. Однако скорость реакции фибриллообразования, определяемая свободной энергией активации при соответствующих физиологических температурах для различных коллагеновых образцов, практически остается постоянной.

Функция коллагена чисто механическая (опорная, защитная), поэтому совершенно естественно, что оптимальные температурные условия сокращения коллагеновых волокон для нормальной подвижности должны быть сопряжены с физиологической температурой вида в эволюции. Этот факт, по-видимому, неоспорим, однако он не объясняет механический механизм подстраивания температуры сокращения к физиологической температуре, т. е. механизм направленного температурного отбора. Объяснение такого отбора лежит в явлении биосинтеза коллагена и в той части, которая зависима от температуры. Если процесс фибриллогенеза можно отнести к последней ступени биосинтеза коллагена, то, как мы видим из результатов, полученных нами, направленный температурный отбор может осуществляться в сохранении временно-температурных параметров процесса биосинтеза коллагена, на ранних стадиях формирования соединительной ткани в зародыше, что, по-видимому, достигается за счет оптимальной конформационной гибкости при физиологической температуре [1]. Следует отметить, что, с одной стороны, такая оптимальная конформационная гибкость необходима для фибриллообразования, а с другой — этот же процесс и осуществляет оптимальную конформационную гибкость при помощи отбора.

## ЛИТЕРАТУРА

1. Александров В. Я. Клетки, макромолекулы и температура, Л., «Наука», 1975.
2. Бурджанадзе Т. В., Чарквани Г. Г., Чанчалашвили З. И. Вопросы биофизики и теоретической биологии, ТГУ, Тбилиси, 139, 7—16, 1971.
3. Жоли М. Физическая химия денатурации белков, «Мир», М., 1968.
4. Кизиря Е. Л. Кинетические особенности процесса внутримолекулярного плавления проколлагена, Автореф. канд. дисс., Тбилиси, 1975.
5. Хочачка П., Сомеро Дж. Стратегия биохимической адаптации, «Мир», М., 1977.
6. Bailey A. J., *Compar. Biochem.*, 26 B, 297—423, 1968.
7. Glimcher M. J., Francois C. J., Richards L., Crane S. M. *Biochim. Biophys. Acta*, 93, 585, 602, 1964.
8. Privalov P. L., Tiktopulo E. I., Tischenko V. M. *J. Mol. Biol.*, 127, 203—216, 1979.
9. Prockop D. J., Berg R. A., Kivirikko K. I., Uitto J. In: *Biochemistry of Collagen* (ed. by Ramchandran G. N., Reddi A. N.), New York, 163—273, 1976.
10. Rigby B. J. *Chem. Dyn.* (ed. by Hirschfelder G.) New York, 537—555, 1971.
11. Williams Barbara R., Gelman R. A., Poppe D. C., Piez K. A., *J. Biol. Chem.*, 253, 18, 6578—6585, 1978.

## ევოლუციურად განსხვავებულ კოლაგენთა ფიბრილოგენეზი

თ. ბურჯანაძე, მ. ბეჰიტაძე, ა. გიორგაძე, გ. ბაბაკიშვილი

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

### რ ე ზ ი უ მ ე

შესწავლილია ევოლუციურად განსხვავებულ კოლაგენთა ფიბრილოგენეზის აქტივაციური პარამეტრები. ნაჩვენებია, რომ გათბობისას ხსნარში სხვადასხვა წარმოშობის კოლაგენების ფიბრილების წარმოქმნა მიმდინარეობს განსხვავებულ ტემპერატურულ არეებში, რომლებიც მჭიდრო კავშირში არიან გარემოს ტემპერატურასთან. გაზომილია აქტივაციის თავისუფალი ენერგია და ენტალპია. მიღებული მონაცემები მოწმობენ, რომ ფიბრილების წარმოქმნას წინ უსწრებს მოლეკულის კონფორმაციული გარდაქმნა. განიხილება

დენატურაციის ტემპერატურის შესაბამისობის ბიოლოგიური მნიშვნელობა გარემოს ტემპერატურის ზედა ზღვართან. აღნიშნული შესაბამისობა წარმოადგენს კონფორმაციული მოქნილობის ტემპერატურისაგან ფუნქციონალური დამოკიდებულების ზღვრულ გამოხატულებას. გაკეთებულია დასკვნა იმის შესახებ, რომ კოლაგენის მიმართული ტემპერატურული შერჩევა ევოლუციის პროცესში აუცილებელია მისი ბიოსინთეზის სიჩქარის გარკვეული დონის შესანარჩუნებლად.

## FIBRILLOGENESIS OF EVOLUTIONARILY DIFFERENT COLLAGENS

T. V. BURJANADZE, M. O. BEZHITADZE, A. G. GIORGADZE, G. M. BABAKISHVILI

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

### S u m m a r y

The activation parameters of fibril formation of the evolutionarily different collagens were studied in rat, carp, frog, dog — fish and flounder. In heat treated solution collagen fibril formation was shown to proceed in variable temperature sites correlated with the temperature of the environment inhabited by the species. The enthalpy and free energy activation were measured. Obtained data indicate that the fibril formation is followed by conformation molecular rearrangement.

The biological significance of the conformity of denaturation temperature with the upper temperature limit of the environment inhabited by the species is considered. The pointed conformity is to be the limit expression of the functional dependence of conformational flexibility on the temperature. The directed temperature selection of collagen in the process of evolution appeared to be necessary for the maintenance of collagen biosynthesis velocity at a constant level.



პრონოსა

კონკურსი ახალგაზრდა მეცნიერთა საშუალო ნაშრომზე 1989 წლისათვის

საქართველოს სსრ მეცნიერებათა აკადემია საბუნებისმეტყველო, ტექნიკურ და საზოგადოებრივ მეცნიერებათა დარგში ახალგაზრდა მეცნიერთა საუკეთესო ნამუშევრების გამოსავლინებლად 1989 წლისათვის აცხადებს კონკურსს.

კონკურსში გამარჯვებულთათვის დაწესებულია ორი მედალი და ფულადი პრემია, თითოეული 200 მანეთის ოდენობით, რომელსაც ყოველწლიურად დეკემბერში ანიჭებს საქართველოს სსრ მეცნიერებათა აკადემია ახალგაზრდა მეცნიერებს საუკეთესო მეცნიერული ნამუშევრებისათვის.

მედლები და პრემიები მიენიჭებათ ცალკეულ მეცნიერებს საუკეთესო მეცნიერული ნამუშევრებისათვის (მეცნიერულ ნაშრომთა სერიისათვის ერთიანი თემატიკის მიხედვით), აღმოჩენებისათვის, გამოგონებებისათვის.

მედლებისა და პრემიების მოსაპოვებლად კონკურსში მონაწილეობისათვის დაიშვებიან სამეცნიერო-კვლევითი დაწესებულებების, უმაღლესი სასწავლებლების, საწარმოებისა და ორგანიზაციების მეცნიერი და სამეცნიერო-ტექნიკური თანამშრომლები, მასწავლებლები, სტაჟიორ-მკვლევარები, ასპირანტები, რომელთა ასაკი არ აღემატება 33 წელს.

კანდიდატების წამოყენების უფლება აქვთ:

ა) სამეცნიერო დაწესებულებებისა და უმაღლესი სასწავლებლების სამეცნიერო საბჭოებს;

ბ) სამინისტროებს, უწყებებს;

გ) სამრეწველო საწარმოთა და საკონსტრუქტორო ბიუროების ტექნიკურ საბჭოებს.

ორგანიზაციები, რომელნიც წამოაყენებენ კანდიდატებს, ვალდებულნი არიან არა უგვიანეს ოქტომბრისა საქართველოს სსრ მეცნიერებათა აკადემიის სათანადო განყოფილებაში წარწერით „საქართველოს სსრ მეცნიერებათა აკადემიის მედლის პრემიითურთ მოსაპოვებლად“ წარმოადგინონ:

ა) მოტივირებული წარდგენა, რომელიც შეიცავს ნამუშევრის მეცნიერულ დახასიათებას;

ბ) გამოქვეყნებული სამეცნიერო ნამუშევრის (ნაშრომთა სერიის), აღმოჩენის ან გამოგონების მასალები 3 ეგზემპლარად;

გ) ცნობები ავტორის შესახებ (ძირითადი სამეცნიერო ნაშრომების, აღმოჩენების, გამოგონებების სია, სამუშაო ადგილი და თანამდებობა, დაბადების წელი, ბინის მისამართი).

ცნობები ტელეფონით: 93-29-86, 93-88-89.

Известия АН ГССР, серия биологическая  
(на русском, грузинском и английском языках)

Корректор Д. Р. Арчвадзе

Сдано в набор 30.03.89; Подписано в печать 15.05.89.  
УЭ 04295. Формат 70×108<sup>2</sup>/<sub>16</sub>. Бумага № 1. Высокая печать.  
6,7 усл.-печ. л. 7,23 кр.-отт. 5,5 уч.-изд. л.  
Тираж 1000 экз. Заказ 950. Цена 85 коп.

---

გამომცემლობა „მეცნიერება“, თბილისი, 380060, კუტუზოვის ქ., 19  
საქართველოს სსრ მეცნ. აკადემიის სტამბა, თბილისი 380060, კუტუზოვის ქ., 19

---

Издательство «Мецниереба», Тбилиси, 380060, ул. Кутузова, 19  
Типография АН Грузинской ССР, Тбилиси, 380060, ул. Кутузова, 19

**საბჭოთა საფარდებში**

1. ერთნაირი იმედება დასრულებული ექსპერიმენტული და თეორიული ხასიათის ორგანიზაციის წარმომადგენელი ბიოლოგიის დამტკიცებული დარგების მიხედვით; მიმოხილვით სტატიები, მომზადებული რედაქციის შეყვებით; მოკლე წერილები და რეცენზიები. ერთნაირი ქვეყნდება ჩატარებული სამეცნიერო-საორგანიზაციო ღონისძიებების ქრონოა.

2. ექსპერიმენტული ნაშრომების მოცულობა ცხრილებით, ნახატებით, ნახატების ქვეყნარ. წერებით, ლიტერატურის სიითა და რეზიუმეებით ჩაესვლ და ინვალსიტა ენებზე არ უნდა აღემატებოდეს ორი ინტერვალის დამტკიცდ (მარცხენა ველიდან 3 სმ დასცლებით) 12 გვერდს. ნახატების რაოდენობა არ უნდა აღემატებოდეს 5-ს. მიმოხილვით სტატიის მოცულობა დასაშვებია 24 გვერდამდე, მოკლე წერილი — 4 გვ. მოკლე წერილი შეიძლება დაერთოს 1—2 ნახატს.

ჩვეულებრივ რუსულ და ინვალსიტა ენებზე (არ უნდა აღემატებოდეს ერთ გვერდს), ლიტერატურის სია, ცხრილები და ნახატების ქვეყნარწერი წარმოდგენილი უნდა იყოს ცალკე ფურცელზე.

3. დედანს (ორ ეგზემპლარად) თან უნდა ერთვოდეს დაწესებულების მამართავი და საექსპერტო კომისიის დსკენა. პირველ გვერდზე მარცხნივ უნდა ეწეროს უკან ინდენსი, მარცხენა — ბიოლოგიის დარგი, შემდეგ სტატიის დასახელება, ავტორების ინიციალები და გვარები, იმ დაწესებულების დასახელება, სადაც შესრულდა ნაშრომი, და მოკლე ანოტაცია (0.5 გვერდი). სტატიის ხელს აწერს ყველა ავტორი. სტატიის ბოლოს სრულად უნდა იყოს აღნიშნული ავტორთა სახელი, მამის სახელი და გვარი, ბინისა და სამსახურის მისამართი და ტელეფონის ნომერი.

4. სტატია უნდა შეიცავდეს შესავალს, მეთოდს, კვლევის შედეგებს და შეჯამების განხილვას.

5. ილუსტრაციები — მათეო ფოტოები, ნახატო გრაფიკები, შესრულებული ლაბორატორიული ან კაცებზე, წარმოდგენილი უნდა იქნეს ორ ეგზემპლარად. ილუსტრაციებზე წარწერები შესრულებული უნდა იყოს ტუშით. ილუსტრაციის უკან მხარეს უნდა აღნიშნული უნდა იყოს მისი ნომერი, ავტორის გვარი და სტატიის შემოკლებული დასახელება (ავტორების შემთხვევაში აღინიშნოს ზემო და ქვემო მხარეები).

6. ციტირებულ ავტორების გვარები ტექსტში მოყვანილი უნდა იყოს სტატიის შესავალში ტრანსკრიპციით, ლიტერატურის სიაში კი — ორიგინალური ტრანსკრიპციით. ლიტერატურის სია დგება ანბანის მიხედვით შემდეგი თანამიმდევრობით: ქართული, რუსული, ლათინური.

რითი ნომრის (ტექსტში იგი კვლავტულ ფრჩხილებში) შემდეგ მოყვანილი უნდა იქნეს ავტორის გვარი და ინიციალები, გამოყენის დასახელება; პერიოდული გამოცემებისათვის — ტომი, ნომერი, გვერდები, წელი, არაპერიოდულიათვის — გამოცემის დასახელება, გამოცემის ადგილი, წელი და გვერდები.

7. ხელწერებზე, რომლებზეც არ არის დაცული აღნიშნული წესები და რომლებზეც არ შესაძლებელია ექრნალის პროფილს, უზარუნდება ავტორის, ყველა სტატია იგზავნება სარეცენზიოდ.

8. სტატიების კორექტურის გასწავებისა დაბაბებით ცვლილებების შეტანა ტექსტში დაუშვებელია.

9. რედაქცია იტყობს უფლებას შეამციროს და შეასწოროს სტატიის ტექსტი.

10. ავტორს უფასოდ ეძლევა თორმეტი ანაბეჭდი.

ამბტკიცებულთა საქართველოს სსრ მეცნიერებათა აკადემიის პრეზიდიუმის მიერ 14.02.1974

**К СВЕДЕНИЮ АВТОРОВ**

1. В журнале печатаются завершённые, оригинальные работы экспериментального и теоретического характера по утверждённым редакцией разделам биологии, обзорные статьи, написанные по заказу редколлегии, а также краткие сообщения и рецензии. Периодически в журнале помещаются краткая хроника о проведённых научно-организационных мероприятиях.

2. Объём рукописи экспериментальных 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 — до 4 страниц машинописи. Краткие сообщения можно иллюстрировать 1—2 рисунками.

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

3. Рукопись (в двух экземплярах) должна иметь направление учреждения и заключение экспертной комиссии. На первой странице слева приводятся индекс статьи (УДК), справа — раздел биологии, затем название статьи, инициалы и фамилия авторов, название учреждения, где выполнена работа, и краткая аннотация (не более 0,5 стр.).

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

4. Статья должна содержать введение, методику, результаты исследований и обсуждение результатов.

5. Иллюстрации — четкие фотографии на глянцевой бумаге и рисованные графики на калке или белой чертёжной бумаге — следует представлять в двух экземплярах. Надписи на иллюстрациях должны быть выполнены тушью. На обороте иллюстраций следует обозначить карандашом ее номер, фамилию автора и сокращённое название статьи, а в случае необходимости отметить верхний и нижний край.

6. Фамилии цитируемых авторов следует давать в транскрипции, соответствующей тексту статьи и оригинальной — в списке литературы. Список литературы составляется по алфавиту — вначале грузинским и 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.

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

8. Копректур статьи даются авторам для проверки, правки и визирования. Дополнительные изменения в тексте не допускаются.

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

10. Авторы получают бесплатно 12 отдельных оттисков.

Утверждено Президиумом Академии наук ГССР 14.02.1974

Б 140/96

Цена 85 коп.

Индекс

76264

