

1992



საქართველოს მეცნიერებათა აკადემიის მაცნე

ИЗВЕСТИЯ АКАДЕМИИ НАУК ГРУЗИИ
PROCEEDINGS OF THE ACADEMY OF SCIENCES
OF GEORGIA

ბიოლოგიის სერია СЕРИЯ БИОЛОГИЧЕСКАЯ

*№ 201
(4-6)*

1992 N4

თბილისი • თბილი
TBILISI • TOM
VOL.

18

დარგების წესი

თეორიული ბიოლოგია
 აღმნიშნა და ცხოველთა ფიზიოლოგია
 (ნოტოგალური და კათოლოგოიური)
 ნოტოლოგია
 ანატომია
 ემბრიოლოგია და ჰისტოლოგია
 ციტოლოგია
 კათოლოგოიური ნოტოლოგია
 ბიოქიმია
 ფარმაკოლოგია
 ბოტანიკა (ეპსკავრ. და თეორ.)
 მცენარეთა ფიზიოლოგია
 ზოოლოგია (ეპსკავრ. და თეორ.)
 ენთომოლოგია
 პარაზიტოლოგია
 ჰელმინტოლოგია
 პალეობიოლოგია
 ბიოგეოცენოლოგია
 ეკოლოგია
 მიკრობიოლოგია
 ვირუსოლოგია
 იმუნოლოგია
 გენეტიკა
 რადიობიოლოგია
 ბიოფიზიკა და მოლეკულური ბიოლოგია
 ბიონიკა და ბიოკიბერნეტიკა

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 მეცნიერებათა აკადემიის მაცნე



ИЗВЕСТИЯ АКАДЕМИИ НАУК ГРУЗИИ

ბიოლოგიის სერია
СЕРИЯ БИОЛОГИЧЕСКАЯ

ტომი 18, № 4
Том

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

თბილისი
ТБИЛИСИ

„მეცნიერება“
«МЕЦНИЕРЕБА»

1992

სარედაქციო კოლეგია:

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

ლ. გაბუნია, ი. ელიავა, მ. ზაალიშვილი, გ. თუმანიშვილი, გ. კვესიტაძე, კ. ნადარეიშვილი,
ბ. ნანეიშვილი, გ. ნახუტრიშვილი, გ. სანაძე, ბ. ყურაშვილი, თ. ჭანიშვილი,
ნ. ჯავახიშვილი
პასუხისმგებელი მდივანი ს. ლაბაძე

РЕДАКЦИОННАЯ КОЛЛЕГИЯ:

Главный редактор В. М. Окуджава
Зам. главного редактора Т. Н. Онiani
Ученый секретарь Г. Л. Бекаиа

Л. К. Габуния, Н. А. Джавахишвили, М. М. Заалишвили,
Г. И. Квеститадзе, В. Е. Курашвили, К. Ш. Надарейшвили, Б. Р. Нанейшвили,
Г. Ш. Нахуцришвили, Г. А. Санадзе, Г. Д. Туманишвили, Т. Г. Чанишвили,
И. Я. Элиава

Ответственный секретарь С. Р. Лабалдзе

EDITORIAL BOARD:

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

T. Chanishvili, N. Djavakhishvili, L. Gabunia,
G. Kvesitadze, V. Kurashvili, K. Nadareishvili, B. Naneishvili,
G. Nakhutsrishvili, G. Sanadze, G. Tumanishvili, M. Zaalishvili, I. Eliava

Executive Secretary S. Labadze

© Известия АН Грузии
Серия биологическая, 1992

რედაქციის მისამართი:

380060, თბილისი-60, კუტუზოვის ქ. 19,
ტელ. 37-86-78

Адрес редакции:

380060, Тбилиси-60, ул. Кутузова, 19,
тел. 37-86-78

Корректор Д. Р. Арчвадзе

Сдано в набор 08.07.91. Подписано в печать 14.09.92
Формат бумаги 70×108¹/₁₆. Бумага № 1. Высокая печать.
6,3 усл.-печ. л. 7,23 кр.-отт., 4,3 уч.-изд. л.
Тираж 900 экз. Заказ 313. Цена 2 руб.

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

საქართველოს მეცნ. აკადემიის სტამბა, თბილისი, 380060, კუტუზოვის ქ. 19
Типография АН Грузии, Тбилиси, 380060, ул. Кутузова, 19

СОДЕРЖАНИЕ — შიხაპარსი — CONTENTS

C. M. Бутхузи, Л. Г. Ормоцадзе, Т. Т. Бутхузи, Т. П. Лагидзе. Влияние центрального серого вещества на моторные и вегетативные реакции, вызванные болевым воздействием	221
ბ. ბუთხუზი, ლ. ორმოცაძე, თ. ბუთხუზი, თ. ლაღიძე. ცენტრალური რუხი ნივთიერების გავლენა მტკივნეული გაღზიანებით გამოწვეულ მორტორულ და ვეგეტატორ რეაქციებზე	
S. Butkhuzi, L. Ormotsadze, T. Butkhuzi, T. Lagidze. Influence of central grey matter on motor and vegetative reactions evoked by painful stimulation	
V. B. Парцвания. [Н. Д. Сергеевко,] Влияние этилового спирта на пейсмерную активность нейронов	228
ვ. ფარცვანია, [ნ. სერგეენკო,] ეთილის სპირტის გავლენა ვაზის ლოკოინას ნეირონების პეისმეკერულ აქტიობაზე	
V. Partsvania, [N. Sergeenko,] The action of ethyl spiritus on pacemaker activity of helix.	
И. Л. Лазриев, Т. Г. Лордкипанидзе. Ультраструктурная организация олигодендроцитов нижних бугров и внутреннего коленчатого тела головного мозга кошки	234
ი. ლაზრიევი, თ. ლორთქიფანიძე. კატის თავის ტვინის ობზოგრაჟის ქვედა ბორცვების და მედიალური დამუხლული სხეულის ოლაგოდენდროციტების ულტრასტრუქტურული ორგანიზაცია	
I. Lazriev, T. Lordkipanidze. Ultrastructural organization of oligodendrocytes in inferior Colliculus and medial geniculate body of cat's brain	
З. Г. Цагарели, В. И. Палеха. Морфологическая характеристика повреждений печени при воздействии постоянного магнитного поля	242
ზ. ცაგარელი, ვ. პალეხა. ვირთავას ლვიძის დაზიანების მორფოლოგიური დაზიანება მუდმივი მაგნიტური ველის ზემოქმედებისას	
Z. Tsagareli, V. Palekha. Morphological characteristics of liver injury under the influence of constant magnetic field	
Д. Н. Мачарашвили, И. К. Сванидзе, Н. Г. Монцелидзе. Пролиферативная активность гранулярных клеток зубчатой извилины гиппокампа крыс в пре- и постнатальном онтогенезе	248
დ. მაჭარაშვილი, ი. სვანიძე, ნ. მონცელიძე. ვირთავას ჰიპოკამპის დაკბილული სხეულის გრანულარული უჯრედების პროლიფერაციული აქტიობა პრე- და პოსტნატალურ ონტოგენეზში	
D. Macharashvili, I. Svanidze, N. Montselidze. Proliferative activity of rat hippocampal dentate gyrus granular cell during pre-and postnatal ontogenesis	
Н. Н. Кипшидзе, М. В. Окуджава, М. Д. Рухадзе. Значение некоторых фармакокинетических показателей дилзема в оптимизации лечения стенокардин	253
ნ. ყიფშიძე, მ. ოკუჯავა, მ. რუხაძე. დილზემის ზოგიერთი ფარმაკოკინეტიკური მაჩვენებლის მნიშვნელობა სტენოკარდიის მკურნალობის ოპტიმიზაციაში	
N. Kipshidze, M. Okujava, M. Rukhadze. The importance of some pharmacokinetic indices in optimization of angina pectoris treatment with dilzem	

- Дж. В. Начкебия, Т. Г. Габисония, Т. Г. Чанишвили. Биологические свойства некоторых штаммов *Cl. perfringens* и *Cl. septicum*
- ჭ. ნაქყებია, ტ. გაბისონია, თ. ჭანიშვილი. *Cl. Perfringens*-ის და *Cl. Septicum*-ის შტამების ზოგიერთი ბიოლოგიური თვისებები
- N. Nachkebia, T. Gabisonia, T. Chanishvili. Biological properties of *Cl. perfringens* and *Cl. septicum* several strains
3. В. Орджоникидзе, В. Е. Курашвили, Л. К. Вепхвадзе, И. Ш. Дгебуадзе, Т. Г. Чантурия. Выявление протена А и других признаков патогенности у клинических штаммов стафилококков 262
- ზ. ორჯონიკიძე, ვ. ყურაშვილი, ლ. ვეფხვაძე, ი. დგებუაძე, თ. ჭანტურია. სტაფილოკოკის კლინიკურ შტამებში ცილა А-სა და სხვა პათოგენური თვისებების განსაზღვრა
- Z. Ordzhonikidze, V. Kurashvili, L. Vepkhvade, I. Dgebuadze, T. Chanturia. The determination of protein - A and other pathogen properties in clinical species of staphylococcus
- Д. С. Пирцхалаишвили, М. А. Дарахвелидзе, Н. А. Качлишвили. Некоторые аспекты действия макрофагов в процессе роста злокачественной опухоли 266
- დ. ფირცხალაიშვილი, მ. დარახველიძე, ნ. ქაჩლიშვილი. მაკროფაგების მოქმედების თავისებურებანი ავთვისებიანი სიმამინის განვითარების პროცესში
- D. Pirtskhalaishvili, M. Darakhvelidze, N. Kachlishvili. Some aspects of macrophages effects during malignant tumour growth
- Н. Т. Датукишвили, М. Г. Наназашвили, Х. Г. Кванталиани, Д. Д. Прангишвили. Характеристика антител, полученных к ДНК-полимеразе А археобактерии *Sulfolobus Acidocaldarius* 272
- ნ. დათუკიშვილი, მ. ნანაზაშვილი, ხ. კვანტალიანი, დ. ფრანგიშვილი. არქეობაქტერია *Sulfolobus Acidocaldarius*-ის დნმ-პოლიმერაზა А-ს მიმართ მიღებული ანტისხეულების დახასიათება
- N. Datukishvili, M. Nanazashvili, Kh. Kvantaliani D. Prangishvili. Characterization of antibodies obtained against DNA polymerase A of archaeobacterium *Sulfolobus Acidocaldarius*
- К. М. Джандиери, Н. Г. Авалишвили, Н. В. Бочоришвили, М. Р. Кезели, Г. Д. Туманишвили. Активная фракция белков ядерного экстракта печени крысы, демаскирующая ДНК хроматина 277
- ქ. ჯანდიერი, ნ. ავალიშვილი, ნ. ბოჩორიშვილი, მ. კეზელი, გ. თუმანიშვილი. ქრომატინის დნმ მადემასკირებელი ვირთაგვას ღვიძლის ბირთვული ექსტრაქტის ცილების აქტიური ფრაქცია
- K. Jandieri, N. Avalishvili, N. Bochorishvili, M. Kezeli, G. Tumanishvili. The active fraction of rat liver nuclear extract demasking DNA chromatin

НАУЧНЫЙ ОТЧЕТ
სამეცნიერო ანგარიში
SCIENTIFIC REPORT

- Р. К. Беридзе, П. Ханельт, В. Н. Канделаки, Т. С. Гиргვიлиани, Ю. Шульце-Мотель. О некоторых результатах совместных исследований генетических ресурсов культурной флоры Западной Грузии 284
- რ. ბერიძე, პ. ხანელტი, ვ. კანდელაკი, თ. გირგვლიანი, ი. შულცი-მოტელი. დასავლეთ საქართველოს კულტურული ფლორას გენეტიკური რესურსების ერთობლივი გამოკვლევის შედეგები
- R. Beridze, P. Hanelt, D. Kandelaki, T. Girgviliani, J. Schultze-Motel. Results of the joint studies on the genetic resources of cultured flora of West Georgia

შპს 612.884:612.1

ალამიანისა და ცხოველთა ფიზიოლოგია

ცენტრალური რუხი ნივთიერების გავლენა მტკიცეული გალიზიანებით გამოწვეულ მოტორულ და ვეგეტატიურ რეაქციებზე

ს. ბუთხუჯი, ლ. მაროცაძე, თ. ბუთხუჯი, თ. ლალიძე

საქართველოს მეცნიერებათა აკადემიის ი. ბერტაშვილის სახელობის ფიზიოლოგიის
ინსტიტუტი, თბილისი

შემოსულია რედაქციაში 02.04.91.

შესწავლილ იქნა თავის ტვინის ენდოგენური ანალგეზიის ერთ-ერთი ძირითადი უბნის — ცენტრალური რუხი ნივთიერების გავლენა მტკიცეული გალიზიანებით გამოწვეულ მოტორულ და ვეგეტატიურ რეაქციებზე. ჩატარებულმა კვლევამ ცხადყო, რომ ცენტრალური რუხი ნივთიერების სტიმულაციის დროს ტკივილით გამოწვეულ ზოგად-ქცევით, მოტორულ და ვეგეტატიურ გამოვლინებებს შორის არ აღინიშნება წრფივი კორელაცია. არის მსჯელობა ცენტრალური რუხი ნივთიერების ოპიატური მექანიზმების როლზე ნოციცეპტური რეფლექსის დათრგუნვასა და სიმპათიკური ნერვული სისტემის გააქტივებაში.

ტკივილი წარმოადგენს რთულ ფსიქო-ფიზიოლოგიურ ფენომენს. მას გააჩნია სენსორული, მოტორული და ემოციურ-აფექტური კომპონენტები. ამავე დროს გარკვეულ შემთხვევებში შეიძინევა ძვრები ვეგეტატიური ნერვული სისტემის მხრივ, რაც თავს იჩენს ჰემოდინამიკურ, გულის მუშაობისა და სუნთქვის ცვლილებებში.

დღეს საყოველთაოდ აღიარებულია ოპიოიდურული პეპტიდების წამყვანი როლი ემოციური და ნოციცეპტური რეაქციების ფორმირებაში და ოპიატების ტკივილდამაყუჩებელი ქმედების რეალიზაციაში. მრავალი გამოკვლევი, და მათ შორის ჩვენს ლაბორატორიაში მიღებული მონაცემებით, დადგინდა იქნა, რომ თავის ტვინის ლეროს ზოგიერთი სტრუქტურის — ჰიპოთალამუსის, ცენტრალური რუხი ნივთიერების, ნაკერის ბირთვების, ლურჯი ლაქის და სხვა უბნების ელექტრული გალიზიანება იწვევს ტკივილის ჩლურბლის გაზრდას და მეტ-ნაკლებად თრგუნავს ნოციცეპტური გალიზიანების

საბასუნოდ აღმოცენებულ მოტორულ და ემოციურ-ქცევით რეაქციებს. ეს მოვლენა განიხილება როგორც ანალგეზიის გამოვლინება, რომელიც ვითარდება თავის ტვინში ენდოგენური ოპიატური პეპტიდების გამოყოფის შედეგად [2, 3, 8, 16, 18, 19, 23]. ამ მონაცემების საფუძველზე ჩამოყალიბდა კონცეფცია ე. წ. ენდოგენური ანალგეზიის სისტემის შესახებ. ცენტრალური ნერვული სისტემის ანალგეზური სტრუქტურების როლი მტკიცეული გალიზიანებით გამოწვეული ვეგეტატიური რეაქციების რეგულაციაში მთლად ნათელი არ არის. ლიტერატურაში არის შრომები, სადაც ნაჩვენებია, რომ ზემოაღნიშნული სტრუქტურების გალიზიანება თრგუნავს აგრეთვე ტკივილით გამოწვეულ ჰემოდინამიკურ ძვრებსაც [5, 9], თუმცა არის ამის საწინააღმდეგო მონაცემებიც [1].

წინამდებარე ნაშრომის მიზანს შეადგენდა შეგვესწავლა ენდოგენური ანალ-



გეზიის სისტემის ერთ-ერთი ძირითადი რგოლის — ცენტრალური რუხი ნივთიერების გავლენა მტკიცეული გალიზიანებით გამოწვეულ ვეგეტატურ რეაქციებზე

და ამ გავლენის კორელაცია იმ მოტორულ და ქვეით რეაქციებთან, რომელთა თარღება ტკივილისა და ანალგეზიის დროს.

მეთოდია

ცდები ტარდებოდა ზრდასრულ კატებზე მწვავე და ქრონიკული ექსპერამენტის პირობებში. გალიზიანებელი ელექტროდები ჩანერგილი იყო ცენტრალურ რუხ ნივთიერებაში (A+3, L-1, H-1) სტერეოტაქსიკური ატლასის კორდინატების მიხედვით [24]. ტკივილს ვიწვევდით ზედა ყბის ეშვის პულების ელექტრული გალიზიანებით — მართკუთხა იმპულსური დენის ერთხელობრივი კვეთებებით (10—20 ვოლტი, 1 იმპ/წმ.) მასში ჩანერგილი ელექტროდების საშუალებით [4, 14]. ტკივილის აღმოცენებისა და მისი ინტენსიობის შეფასების თბიექტურ მაჩვენებლად გამოიყენებოდა ყბისქვეშა ორმუცელა კუნთის შეკუმშვის ელექტრომიოგრაფიული რეგისტრაცია. როგორც ცნობილია, ყბისქვეშა ორმუც-

ლა კუნთის შეკუმშვა არის კიდურების მოხრის ანალოგი. კიდურების მოხრის რეფლექსი კი აღმოცენდება ნოციცეპტური აფერენტების აგზნების შედეგად, და შესაბამისობაშია ტკივილის შეგრძნების ინტენსიობასთან [13, 25, 26]. ცენტრალური რუხი ნივთიერება ღიზიანდებოდა 7—14 ვოლტი ძაბვის მართკუთხა იმპულსური დენით (იმპულსის ხანგრძლივობა 0,5 მილი წმ., სიხშირე 50—100 ჰერცი). ერთდროულად დინამიკაში რეგისტრირდებოდა ზოგადი არტერიული წნევა და ელექტროკარდიოგრაფია.

ცდების დასასრულს ტარდებოდა ჩანერგილი ელექტროდების მდებარეობის მორფოლოგიური კონტროლი. მონაცემების სტატისტიკური დამუშავება წარმოებდა სტიუდენტის კრიტერიუმის მიხედვით.

ცდების შედეგები და განსჯა

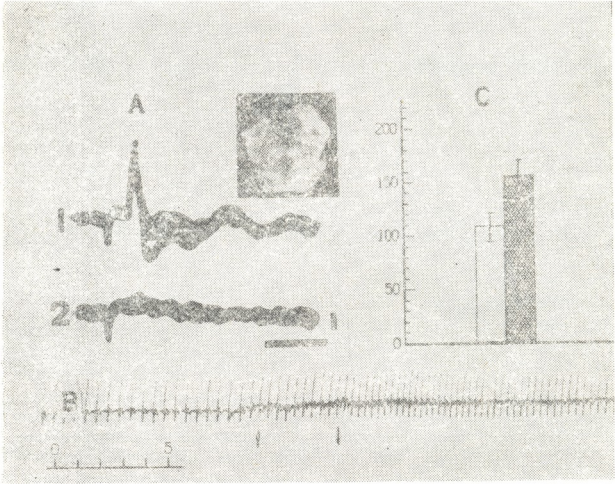
ცენტრალური რუხი ნივთიერება ღიზიანდებოდა ისეთი ძალით (ზღურბლოვანი), რომელიც იწვევდა სუსტად გამოხატულ მოტორულ რეაქციებს — პირის გაღებას, ლოკით მოძრაობებს, თავის სუსტ რეტროფლექსიას. გალიზიანების გამორთვისთანავე აღნიშნული რეაქციები სწრაფად ისპობოდა. როგორც 1 სურათიდან ჩანს, ქრონიკულ ცდებში ცენტრალური რუხი ნივთიერების ხანმოკლე (2—5 წამით) გალიზიანება ზღურბლოვანი ძალით მაქსიმალურად თრგუნავდა კბილის პულების გალიზიანებით გამოწვეულ ყბისქვეშა ორმუცელა კუნთის ელექტრულ პასუხებს (სურ. 1, A, 1—2). ორმუცელა კუნთის ნოციცეპტური პასუხების ნაწილობრივი ან სრული დათრგუნვა იწყებოდა ცენტრალური რუხი ნივთიერების გალიზიანების ჩართვიდან 2—3 წამის შემდეგ და გრძელდებოდა გამორთვის შემდეგაც 20—40 წამის განმავლობაში. ამავე დროს აღნიშნებოდა მნიშვნელოვანი ძვრები ვეგეტატურ

რეაქციებში. ქრონიკულ ცდებში ცენტრალური რუხი ნივთიერების გალიზიანებისას როგორც იზოლირებულად, ისე კბილის პულების გალიზიანების ფონზე, ვითარდებოდა ტაქიკარდია. იგი კიდევ უფრო ძლიერდებოდა გალიზიანების შეწყვეტის შემდეგ (სურ. 1, B) და გრძელდებოდა თითქმის 50—60 წამის განმავლობაში. გულისცემის სიხშირე მატვლობდა 20—30%-ით (დადებითი ქრონოტროპული ეფექტი), ერთეულ ცდებში 70%-ითაც კი (სურ. 1, C). მიღებული მონაცემები სარწმუნოა ($P < 0,001$).

მწვავე ცდებში ცენტრალური რუხი ნივთიერების ზღურბლოვანი გალიზიანება იწვევდა გალიზიანების ჩართვიდან 1—2 წამის დაყოვნებით ზოგადი არტერიული წნევის მკვეთრ აწევას, რომელიც გრძელდებოდა გალიზიანების გამორთვის შემდეგაც 10—12 წამის განმავლობაში (სურ. 2, 2), რასაც მოსდევდა ზოგადი არტერიული წნევის უმნიშვნელო დაცემა რამდენ-

ნიმე წამის განმავლობაში, შემდეგ კი წნევა უბრუნდებოდა საწყის დონეს, რაც შეეხება გულისცემის სისწორეს, ქრონიკული ცვლილებების განსხვავებით, იგი ყოველთვის უცვლელი იყო, თუმცა ზოგადი არტერიული წნევის პრესორულ ეფექტს

ნებოდა ქვედა ყბის ორმუცელა კუნთის ნოციცეპტური პასუხები (სურ. 2, მ) პერტენზიის პირობებში ტკივილის ზღურბლის გაზრდაზე მიუთითებს ლიტერატურული მონაცემებიც [27]. ამრიგად, ჩვენს ექსპერიმენტებში მი-



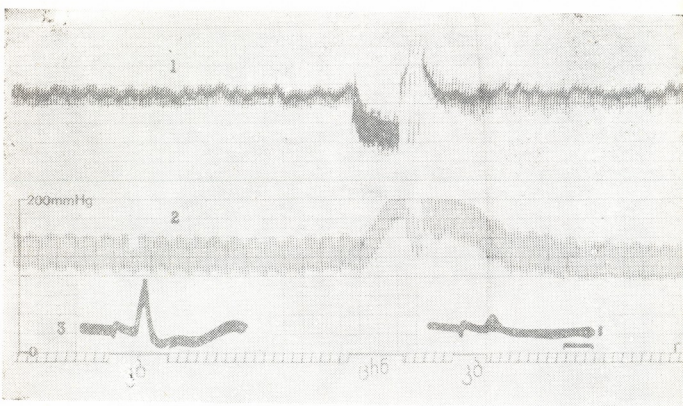
სურათი 1. ცენტრალური რუხი ნივთიერების გალიზიანების გავლენა ნოციცეპტურ მოტორულ და ვეგეტატურ რეაქციებზე: A — ყბისქვეშა ორმუცელა კუნთის პასუხების ცვლილებები ცენტრალური რუხი ნივთიერების ელექტრული გალიზიანების გავლენით; 1—კუნთის პასუხები გალიზიანებამდე, 2 — უშუალოდ გალიზიანების შემდეგ. ცენტრალური რუხი ნივთიერება დიზიანდებოდა—10 ვოლტი, 100 იმპ/წმ, 0,5 მლ/წმ; კალიბრაცია: 10 მლ ვოლტი, 40 მლ/წმ; B — გულისცემის სისწორის ცვლილება ცენტრალური რუხი ნივთიერების ელექტრული გალიზიანების დროს და გალიზიანების შეწყვეტის შემდეგ; ისრები (II) მიუთითებენ გალიზიანების ჩართვას და გამორთვის მომენტებს. დრო: I დანაყოფი — 1 წამი; C — გულისცემის სისწორის ცვლილებები წუთში ცენტრალური რუხი ნივთიერების გალიზიანებამდე (თეთრი სვეტი) და გალიზიანების შემდეგ (დაშტრიხული სვეტი); მონაცემები სარწმუნოა ($P < 0,001$). ტუნის ანათლის სურათზე ნაჩვენებია ცენტრალურ რუხ ნივთიერებაში ჩანერგილი ელექტროდების კვალი

თან ახლდა გულის შეკუმშვის ძალის ამპლიტუდის გაზრდა — დადებითი ინოტროპული ეფექტი (სურ. 2, 1). აღსანიშნავია ის გარემოება, რომ ცენტრალური რუხი ნივთიერების გალიზიანების შემდეგ, ზოგადი არტერიული წნევის ჯერ კიდევ მაღალი დონის ფონზე, მკვეთრად ითრგუ-

ლებული შედეგები არ ემთხვევა ლიტერატურაში არსებულ ზოგიერთ მონაცემს [5], რომელთა მიხედვით ცენტრალური რუხი ნივთიერების ელექტრული გალიზიანება იწვევს რა ანალგეზიას, ერთდროულად თრგუნავს ნოციცეპტური ხასიათის ვეგეტატურ გამოვლინებებს — ჰიპერტენზიას:

და ტაქიკარდიას. ჩვენი მონაცემებით, ცენტრალური რუხი ნივთიერების ელექტრული გაღიზიანებით ითრგუნება ან სრულად იხსნება ნოციცეპტური გაღიზიანების საპასუხოდ აღმოცენებული ყბის-ქვეშა ორმუცელა კუნთის პასუხები და

18, 19]. ცენტრალური რუხი ნივთიერების ტკივილდამაყუჩებელ მოქმედებაზე მელსაც ადგილი აქვს ჩვენს ცდებშიც, ალბათ, ასევე საფუძვლად უდევს მტკივნეული აფერენტაციის შეკავება სამწვერა ნერვის ბირთვის ღონეზე [3, 17]. გარდა



სურ. 2. გულისცემის სიხშირის (1), ზოგადი არტერიული წნევის (2) და აბსქვეშა ორმუცელა კუნთის პასუხების ცვლილებები (3) ცენტრალური რუხი ნივთიერების გაღიზიანების გავლენით (14 ვოლტი, 100 იპა/წმ, 0,5 მლ/წმ; კალიბრაცია: 10 მლ ვოლტი, 40 მლ/წმ.). ქვევით — კბლის პულსისა და ცენტრალური რუხი ნივთიერების გაღიზიანების და დროის აღნიშვნული ხაზი (ერთი დანაყოფი შეესაბამება ერთ წამს)

ერთდროულად აღინიშნება არტერიული წნევისა და გულისცემის სიხშირის მომატება. საყურადღებოა ის ფაქტიც, რომ შემოაღნიშნული სტრუქტურის გაღიზიანების დროს მოტორულ, ზოგად-ქვევით და ვეგეტატურ გამოვლინებებს შორის არ აღინიშნებოდა წრფივი კორელაცია.

მრავალი მკვლევარი ვარაუდობს, რომ ტვინის ღეროს ანალგეზური სტრუქტურების — პიპოთალამუსის, ცენტრალური რუხი ნივთიერების, ნაყერის ბირთვების, ლურჯი ლაქის და სხვა უბნების ელექტრული გაღიზიანებით გამოწვეული ნოციცეპტური სენსო-მოტორული და ემოციურ-ქვევითი რეაქციების დათრგუნვა ან სრულად აღკვეთა არის მტკივნეული აფერენტული იმპულსების ნაკადის სეგმენტურ ღონეზე შეკავების შედეგი [2, 16,

ამისა, ცენტრალური რუხი ნივთიერების გაღიზიანებით მიღებულ ანალგეზიაში, რომელიც გამოიხატება ქვედაყბის ორმუცელა კუნთის ნოციცეპტური პასუხების ხშირ შემთხვევაში მაქსიმალურ დათრგუნვაში, გამორიცხული არ უნდა იყოს ნაყერის ბირთვების მონაწილეობა. კერძოდ დაღმავალი სეროტონინერგული ბულბოსპინალური გზების გააქტივებით ითრგუნება ნოციცეპტური აფერენტაციის გადაცემა ზურგის ტვინის დორსალურ რქებში [19, 20, 21].

რაც შეეხება ჩვენს ცდებში მიღებულ ნოციცეპტური ხასიათის ჰემოდინამიკურ ძვრებს — ზოგადი არტერიული წნევის პრესორულ ეფექტს და გულისცემის სიხშირის მომატებას ცენტრალური რუხი ნივთიერების გაღიზიანების დროს და მი-

სი შეწყვეტის შემდეგ, ისინი გვაფიქრებინებენ, რომ აღნიშნული ეფექტები განპირობებული უნდა იყოს ოპოიდურული მექანიზმების ჩართვით. ამის დასადასტურებლად ჩვენს ცდებში გამოვიყენეთ მორფინის მსგავსი პრეპარატი ფენტანილი, რომლის ანალგეზური მოქმედება, მორფინთან შედარებით, არის ძლიერი, სწრაფი, მაგრამ ხანმოკლე. აღმოჩნდა, რომ ფენტანილი არ ხსნის ცენტრალური რუხი ნივთიერების ელექტრული გაღიზიანებით გამოწვეულ გულის დადებით ქრონოტროპულ ეფექტს, პირიქით, აღინიშნება მისი შესამჩნევი გაძლიერება. ამის სასარგებლოდ მეტყველებს ლიტერატურაში არსებული მონაცემებიც. მორფინი და მორფინის მსგავსი პრეპარატები — ფენტანილი, პენტოზაცინი და სხვა, ანალგეზური დოზებით ეფექტურად თრგუნავენ რატციულით გამოწვეულ ემოციურ და სენსო-მოტორულ რეაქციებს, იწვევენ არტერიული წნევის მნიშვნელოვან გაზრდას, რაც განპირობებული უნდა იყოს ზურგის ტვინის დაღმავალი სიმპათიკური სტრუქტურების გააქტივებით, რომელიც რეალიზდება ოპოიდურული მექანიზმების ამოქმედებით სეგმენტურ დონეზე [6].

ცნობილია, რომ ზოგადი არტერიული წნევისა და გულ-სისხლძარღვთა ცვლილებების ნეიროფიზიოლოგიური რეგულაცია ხორციელდება ძირითადად სიმპათიკური ნერვული სისტემით. თუმცა, ამავე დროს, ბარორეცეპტორული რეფლექსებიც წარმოადგენენ გულ-სისხლძარღვთა სისტემის ერთ-ერთ მარეგულირებელ მექანიზმს. ორგანიზმზე სტრესული ზემოქმედება, და აგრეთვე ნოციცეპტურიც, ამცირებს პარასიმპათიკური ნერვული სისტემის ტონუსს. ნოციცეპტია, იწვევს რა ზოგადი არტერიული წნევის პრესორულ ეფექტს, თრგუნავს ბარორეცეპტორულ რეფლექსებს [10, 11]. რამდენადაც ცენტრალური რუხი ნივთიერება წარმოადგენს ფუნქციურად მეტად რთულ სტრუქტურას, რომელსაც გააჩნია ანატომიურად იდენტიფიცირებული რეციპროკული ხასიათის კავშირები თავის ტვინის მრავალ უბანთან და მათ შორის იმ სტრუქტურებთან, სადაც თავმოყრილია სისხლის მიმოქცევის მარეგულირებელი უმაღლესი ცენტრები [12, 20, 22]. ეს ნა-

ფუძველს გვაძლევს ვიფიქროთ, რომ ქრონიკულ ცდებში ცენტრალური რუხი ნივთიერების ელექტრული გაღიზიანებით (იზოლირებულად ან ნოციცეპტური გაღიზიანების ფონზე) მიღებული ზოგადი არტერიული წნევის პრესორული ეფექტი და გულის მუშაობის დადებითი ქრონოტროპული რეაქცია განპირობებული უნდა იყოს სიმპათიკური ნერვული სისტემის აგზინებით და ამის შედეგად გამოყოფილი ნორადრენალინის ურთიერთქმედებით β₁-ადრენორეცეპტორებთან, რომლებიც ლოკალიზებული არიან უპირატესად მიოკარდიუმში [7, 15]. ხოლო ის ფაქტი, რომ მწვავე ცდების პირობებში ცენტრალური რუხი ნივთიერების ელექტრული გაღიზიანება იწვევს მხოლოდ ზოგადი არტერიული წნევის პრესორულ ეფექტს და არ ცვლის გულისცემის სიხშირეს, ალბათ, უნდა აიხსნას ზოგადი ნარკოზის დამთრგუნველი გავლენით.

ერთი შეხედვით ძნელი ასახსნელია ის გარემოება, რომ ვეგეტატიური რეაქციების ცვლილებები (სისხლის წნევა, გულის რითმი) ერთნაირი მიმართულებისაა როგორც ტვილის დროს, ისე მისი შეკავებისას. ავტორთა უმრავლესობა თვლის, რომ გულისცემის სიხშირისა და არტერიული წნევის პრესორული ეფექტი ტვილის ვეგეტატიური კომპონენტები, მაგრამ, მაშინ გაურკვეველია — რატომ აღმოცენდებიან ისინი ტვილის სენსორული და სომატური კომპონენტების დათრგუნვისას, რასაც ადგილი აქვს ცენტრალური რუხი ნივთიერების გაღიზიანების დროს. ამის ახსნა შეუძლებელია, თუ ამ ვეგეტატიურ ძვრებს განვიხილავთ, როგორც ტვილის კომპონენტებს. მეორე მხრივ, ამ ფაქტის ახსნა შესაძლებელია, თუ აღნიშნულ ვეგეტატიურ ძვრებს ჩავთვლით, როგორც ენდოგენური ანალგეზიის სისტემის გააქტივების შედეგს, ასე ვთქვათ, როგორც ანალგეზიის კომპონენტებს. მტკივნეული გაღიზიანება, იწვევს რა შესაბამის სენსორულ და მოტორულ რეაქციებს, ერთდროულად ააქტივებს ცენტრალურ მარეგულირებელ (მამოდულირებელ) მექანიზმებს. ამის სასარგებლოდ მიუთითებს ლიტერატურაში არსებული მონაცემები, სადაც შესწავლილია ცენტრალური რუხი

ნეოთერების და ნაყერის ბირთვების სეი-
რონული აქტიობა მტკივნეული გაღიზიან-
ების დროს. ასეთი ბუნებრივი გზით გა-
აქტიებული ენდოგენური ანალგეზიის სის-
ტემა განაპირობებს ამ ძვრებს ვეგეტატუ-

რი ნერვული სისტემის მხრივ, რომლებიც
მიღებული იყო ჩვენს ცდებში გუნდის
მის სისპირისა და ზოგადი არტერიული
წნევის ცვლილებების სახით მისი პირდა-
პირი გაღიზიანების დროს.

ЛИТЕРАТУРА

1. Баклаваджян О. Г., Дарбинян А. Г., Татурян Н. Х., Саруханян Р. В. *Нейрофизиология*, 19, 6, 825—831, 1987.
2. Бутхузи С. М., Беришвили В. Г., Чхартишвили А. Г., Абзанидзе Е. В. *Изв. АН ГССР. сер. биол.*, 3, 5, 400—408, 1977.
3. Бутхузи С. М., Беришвили В. Г., Абзанидзе Е. В. *Сообщения АН ГССР*, 112, 1, 149—152, 1983.
4. Бутхузи С. М., Беришвили В. Г. В сб.: *Механизмы деятельности головного мозга, «Мецниереба», Тбилиси, 1975*, 198—201.
5. Дмитриев А. В. В кн.: *Нейрофармакологические аспекты боли*, Л., 1982, 95—108.
6. Игнатюв Ю. Д., Зайцев А. А., Богданов Е. Г. *Бюлл. эксперим. биол. и медицины*, 11, 597—599, 1987.
7. Шенерд Г. *Нейробиология*, 2, 19—23, 1987.
8. Шерстнев В. В., Полетаев А. Б., Долгов О. Н. *Успехи физиол. наук*, 10, 3, 66—86, 1979.
9. Цырлин В. А. *Нейрофармакология процессов центрального регулирования*, Л., 1969, 333—387.
10. Цырлин В. А., Бравков М. Ф., Бершадский Б. Г. *Физиол. Ж.*, СССР, 64, 626—632, 1978.
11. Acharic N. K., Al-Ubaidy S., Dowman C. B. *Brain Res.*, 69, 2, 439—447, 1973.
12. Bobiller P., Petitjean F., Salvvert D., Zegier M., Seguin S. *Brain Res.*, 85, 2, 205—210, 1975.
13. Cambier Y., Dehen H., Bathien N. J. *Neurol. Sci.*, 22, 39—49, 1974.
14. Keller O., Vicklicky L., Sykova E. *Brain Res.*, 37, 330—332, 1972.
15. Lands A. M. *Nature*, 214, 5088, 597—598, 1967.
16. Liebeskind L. G., Guilbaud G., Besson L. M., Oliveras L. N. *Brain Res.*, 50, 441—446, 1973.
17. Lovick T. A., West D. C. *Wolstencroft Y. H. Neuroscience Lett. Supp.*, 1, 433, 1978.
18. Mayer D. L., Volfe T. L., Aki H., Carder B., Liebeskind L. G. *Science*, 174, 1351—1354, 1971.
19. Mayer D. L. J. *Progr. Neuro-Psychopharmacol. and Biol. Psychiat.*, 8, 4—6, 557—564, 1984.
20. Millhorn D. E., Hökfelt T., Verhojstad A. A. J., Terenius L. *Exp. Brain Res.*, 75, 3, 536—542, 1989.
21. Oliveras S. L., Sierralia F., Fardin V., Besson L. M. *J. Physiol. (France)*, 77, 2—3, 473—482, 1981.
22. Pittman Q. J., Blume H. W., Kearney R. E., Renaud L. R. *Brain Res.*, 174, 1, 39—53, 1979.
23. Reynolds D. V. *Science*, 164, 444—445, 1969.
24. Reinoso F. Suarez. *Topographiehe Hirnatlas der katze*, Darmstadt, 1961.
25. Texen A. L. *J. Physiol. (London)*, 197, 34—35, 1968.
26. Willer L. C. *Pain*, 3, 69—80, 1977.
27. Zamir Nadav, Shuber Eliezer. *Brain Res.*, 201, 2, 471—474, 1980.

ВЛИЯНИЕ ЦЕНТРАЛЬНОГО СЕРОГО ВЕЩЕСТВА НА МОТОРНЫЕ И ВЕГЕТАТИВНЫЕ РЕАКЦИИ, ВЫЗВАННЫЕ БОЛЕВЫМ ВОЗДЕЙСТВИЕМ

С. М. Бутхузи, Л. Г. Ормоцадзе, Т. Т. Бутхузи, Т. П. Лагидзе

Институт физиологии им. Бериташвили АН Грузии, Тбилиси

Резюме

В опытах на бодрствующих животных (кошки) при кратковременной (3—5 с) пороговой стимуляции центрального серого вещества (ЦСВ) от-

мечалось угнетение поведенческих реакций и ноцицептивного рефлекса открывания челюсти (РОЧ). Одновременно наблюдалась тахикардия,

которая продолжалась в течение нескольких секунд (40—50 с) после прекращения стимуляции ЦСВ. У наркотизированных животных стимуляция ЦСВ, наряду с торможением РОЧ, вызывает, как правило, только повышение системного артериального давления без изменения частоты

сердечного сокращения — положительный инотропный эффект. Показано, что при раздражении ЦСВ нет четкой корреляции между угнетением РОЧ и изменением сердечной деятельности. Предполагается участие опиатной системы ЦСВ в указанных вегетативных сдвигах.

INFLUENCE OF CENTRAL GREY MATTER ON MOTOR AND VEGETATIVE REACTIONS EVOKED BY PAINFUL STIMULATION

S. BUTKHUZI, L. ORMOTSADZE, T. BUTKHUZI, T. LAGIDZE

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

Summary

In chronic and acute experiments on cats the correlation between the changes of nociceptive jaw opening reflex (JOR) and vegetative reactions (blood tension, heart contraction rate) during central grey matter (CG) stimulation has been studied.

During CG stimulation inhibition of

JOR was shown to be accompanied by hypertension and tachycardia which continued several seconds (40—50 sec) after the cessation of stimulation. The rate of the CG opiate mechanism in inhibition of nociceptive JOR and activation of sympathetic nervous system is discussed.

УДК 612.824.578.087.1

ФИЗИОЛОГИЯ ЧЕЛОВЕКА И ЖИВОТНЫХ

ВЛИЯНИЕ ЭТИЛОВОГО СПИРТА НА ПЕЙСМЕКЕРНУЮ АКТИВНОСТЬ НЕЙРОНОВ

В. Б. Парцвания, Н. Д. Сергеенко

Институт кибернетики АН Грузии, Тбилиси

Поступила в редакцию 01.06.90

Изучается влияние этилового спирта на пейсмерную активность нейронов виноградной улитки. Показано, что низкие концентрации спирта вызывают повышение частоты генерации нейроном пейсмерных потенциалов действия (ПД). Высокие концентрации спирта подавляют эту активность. Дальнейшее повышение концентрации вызывает нарушение способности нейрона к электрической активности. При вымывании чистым физраствором, не позднее 10 мин после отравления спиртом, пейсмерная активность восстанавливается.

Влияние алкоголя на организм человека хорошо известно. Медико-социальной проблемой является болезнь, называемая алкоголизмом. Хотя однократное применение алкоголя, конечно же, не вызывает это заболевание, однако знание того, как влияет алкоголь на нервную систему на уровне одного нейрона, позволит глубже понять возможные механизмы этого заболевания. Изучение этого вопроса интересно и с точки зрения исследова-

ния влияния на нервную систему биологически активных веществ, к которым относится и алкоголь.

Удобной моделью для изучения влияния алкоголя на нервную систему являются крупные нейроны моллюсков, которые обладают всеми функциональными параметрами, присущими нейронам высших животных. В этой связи вызывает особый интерес изучение влияния этилового спирта на пейсмерную активность этих нейронов.

МЕТОДИКА

В эксперименте были исследованы нейроны левой и правой парietальных ганглиев виноградной улитки. Изолированные окологлоточные кольца находились в физрастворе следующего состава: NaCl 456 г/л, KCl — 0,3 г/л, CaCl₂ — 0,77 г/л, MgCl₂ — 1,01 г/л; pH довели до 7,5—7,8 с

помощью трис. Нейроны идентифицировали соответственно работе [2]. В экспериментах применялась установка для микроэлектродных исследований. Потенциалы регистрировали на чернильном самописце. Использовался этиловый спирт C₂H₅-OH в разных концентрациях.

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

Большинство гигантских нейронов виноградной улитки обладают пейсмерной активностью. На рис. 1 показаны реакции нейрона RPa1 на воздей-

ствие спиртом различных концентраций. Этот нейрон в фоне генерировал импульсы с частотой 0,8 имп/с. Добавление в физраствор спирта в непо-

средственной близости от нейрона вызвало кратковременное повышение частоты импульсов до 1,0 *имп/с* в течение двух секунд (рис. 1а). Зависимость частоты генерации ПД от кон-

центрации спирта 15 г/л. При этом частота достигла своего максимума и составляла 1,3 *имп/с*. При концентрации 20 г/л частота понизилась до 0,5 *имп/с* (рис. 1в), а при 30 г/л

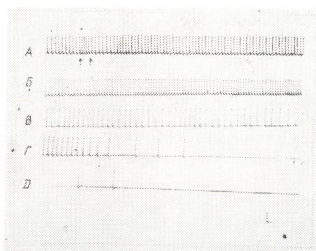


Рис. 1. Активность пейсмекерного нейрона при различных концентрациях этилового спирта: под осциллограммой А стрелками указаны интервал времени с повышенной частотой генерации ПД под влиянием аппликации спирта в непосредственной близости от нейрона; калибровка 50 мВ, 1 с

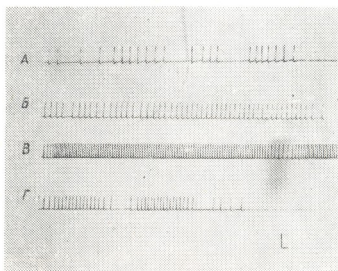


Рис. 2. Упорядочение ритмики нейрона под влиянием низких концентраций спирта; калибровка 50 мВ 1 с

центрации спирта возрастает нелинейно. Скорость нарастания частоты меньше скорости увеличения концентрации алкоголя. На рис. 1б показана активность данного нейрона при кон-

центрации спирта 15 г/л. При этом частота достигла своего максимума и составляла 1,3 *имп/с*. При концентрации 20 г/л частота понизилась до 0,5 *имп/с* (рис. 1в), а при 30 г/л генерация ПД прекратилась (рис. 1г). На рис. 1д проиллюстрирована реакция этого нейрона на добавление в раствор спирта, когда концентрация стала 40 г/л, что вырази-

лось в генерации двух ПД и дальнейшем молчании нейрона. Мембранный потенциал (МП) держался на некотором незначительном гиперполяризованном уровне. Нейрон пребывал в таком состоянии около 20 мин, после чего замена раствора на чистый физраствор не вызывала восстановления генерации ПД.

Сходный эффект имел место и при воздействии спирта на нейрон, который в фоне генерировал ПД с разными интервалами молчания — рис. 2а. Наличие в физрастворе спирта в концентрации, равной 7,9 г/л, привело к переходу аритмической фоновой активности к строго упорядоченной импульсной активности с повышением

ты (рис. 2в). Дальнейшее увеличение концентрации спирта до 13,8 г/л вызвало понижение частоты генерации ПД нейроном, а МП не изменился (рис. 2г). Следует отметить, что амплитуда импульсов в последнем случае понизилась от 70 до 58 мВ. Для исследования эффекта высоких концентраций спирта было проанализировано как изменение частоты импульсов, так и их параметры. На рис. 3 показаны реакции нейрона RPa8 на высокие концентрации спирта. На рис. 3а показана активность нейрона при концентрации спирта в наружном растворе 22,7 г/л. Частота импульсов составляла 2,1 имп/с, потенциал покоя — 50 мВ. Увеличение концентрации спирта до 48,4 г/л вызвало умень-

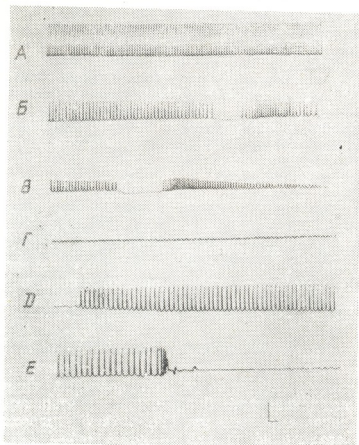


Рис. 3. Влияние высоких концентраций спирта на пейсмекерную активность нейрона; калибровка 50 мВ 1 с

частоты ПД до 1,2 имп/с (рис. 2б). МП при этом оставался неизменным. При концентрации спирта 10,5 г/л произошло повышение частоты ПД в среднем до 2,8 имп/с. При этом была заметна некоторая модуляция частоты

амплитуды ПД до 50 мВ. Частота импульсов понизилась до 1,5 имп/с. Эта концентрация спирта вызвала переход нейрона в пачковую активность (рис. 3б). Амплитуда импульсов в пачках стала постепенно

уменьшаться, и в конце концов нейрон прекратил импульсную активность (рис. 3в). После этого мембранный потенциал остался на некотором деполаризованном уровне ($+15 \text{ мВ}$) и испытывал определенные колебания (рис. 3г). Нейрон находился в этом состоянии 15 мин , после чего физраствор со спиртом заменили на чистый раствор. Произошло частичное восстановление активности нейрона. Частота импульсов составила 1 имп/с (рис. 3д). Повторное добавление спирта концентрацией 40 г/л опять вызвало подавление импульсной активности нейрона (рис. 3е). В этом случае в течение 10 мин процесс был обратимым. На рис. 4 показаны формы и длительности потенциалов действия этого же нейрона при разных концентрациях

рона, показанного на рис. 4а, в данном случае фаза реполяризации не снижается ниже уровня потенциала покоя. После вымывания нейрона чистым физраствором, как указывалось выше, произошло восстановление импульсной активности. На рис. 4в показаны эти ПД с амплитудой 65 мВ и длительностью 35 мс .

Не меньший интерес представляет изучение влияния спирта на поведение пейсмерного нейрона с пачковой активностью. На рис. 5а показана фоновая активность нейрона I.Pa1. Концентрация спирта, равная 11 г/л , вызвала уменьшение амплитуды медленных пейсмерных волн, увеличение длительности пачек, а также повышение количества ПД в каждом из них (рис. 5б). Повышение концентра-

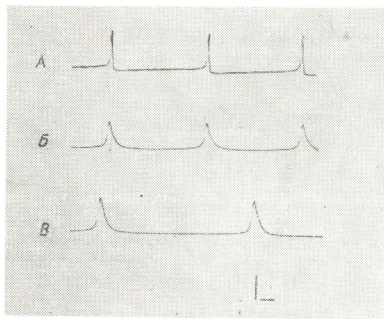


Рис. 4. Изменение параметров ПД действием спирта разной концентрации; калибровка 50 мВ 1 с

спирта в наружном растворе. Рис. 4а соответствует осциллограмме, при которой длительность ПД составляет 16 мс . При этом нейрон находится в растворе, содержащем спирт в концентрации $22,74 \text{ г/л}$; амплитуда 75 мВ . Увеличение концентрации спирта вызвало понижение амплитуды импульсов и одновременно увеличение их длительности. Рис. 4б показывает активность нейрона при концентрации спирта $48,4 \text{ г/л}$. Длительность импульсов увеличилась до 35 мс , а амплитуда понизилась до 50 мВ . Нетрудно заметить, что в отличие от состояния ней-

ции спирта в физрастворе до 50 г/л сопровождалось понижением амплитуды пейсмерных колебаний МП и прекращением импульсной активности (рис. 5в). Вымывание чистым физраствором после 15 мин прекращения импульсной активности вызвало восстановление пейсмерных ПД (рис. 5г).

Как видим, спирт в малых концентрациях почти не влияет на МП клетки, однако вызывает увеличение частоты пейсмерных ПД. Можно высказать предположение, что это является следствием увеличения внутри-



направленного входящего тока. В сине моллюска этот ток переносят как ионы натрия, так и кальция [1]. Объяснить это явление можно с допущением того, что полярные молекулы спирта меняют поверхностный заряд нейрона. Это изменение, незначительное для нейрональной мембраны, существенно для мембраны пейсмейкерного локуса, что в свою очередь меняет состояние ионных каналов в локусе, управляемых электрическим полем, вызывая их активацию. Вследствие этого наблюдается увеличение частоты ПД при неизменном МП.

Для объяснения эффекта кратковременного увеличения частоты импульсов под влиянием спирта, показанного на рис. 1а, можно сказать следующее: скорость диффузии спирта

препятствуют вхождению тока. Этот эффект в сумме с изменением поверхностного заряда нейрона ведет к уменьшению амплитуды ПД и увеличению его длительности. Уменьшение входящего тока объясняет и понижение частоты генерации ПД. При высоких концентрациях спирта каналы для входящего тока полностью закрываются молекулами спирта, что приводит к исчезновению ПД. Длительное закрывание каналов молекулами спирта, в то время как механизм их активации включен, приводит к необратимым связываниям этих молекул каналами, что делает невозможным восстановление импульсной активности нейрона при замене наружной среды чистым физраствором. Время, когда еще можно восстановить им-

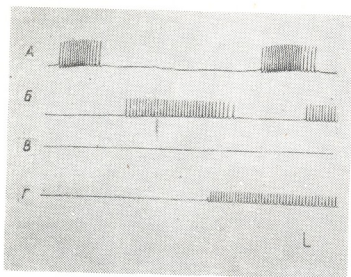


Рис. 5. Влияние спирта на пачковую активность нейрона; калибровка 50 мВ 1 с

та в воде высока, его разбавление во всем объеме привело к понижению концентрации в непосредственной близости нейрона и вызвало возвращение частоты к исходному значению.

Увеличение в растворе концентрации спирта сопровождается длительным повышением частоты ПД. Вышеуказанное изменение поверхностного заряда проявляет эффект насыщения, что выражается в наличии максимума частоты ПД. Дальнейшее увеличение концентрации спирта, вовлекая пейсмейкерную часть соматической мембраны, ведет, видимо, к тому, что молекулы спирта своим протонным концом закрывают ионные каналы и

пульсную активность, в среднем составляла 10 мин. Анализируя влияние спирта на пачковую активность нейронов, можно прийти к заключению, что в малых дозах спирт закрывают Ca^{++} каналы. Это заключение можно сделать в связи с тем, что в таких нейронах вначале ток переносят ионы Na^+ , а ионы Ca^{++} подключаются позднее [3] и обеспечивают активацию Ca^{++} -зависимых K^+ -каналов, которые ответственны за фазу реполяризации. Инактивация этих каналов вызывает уменьшение амплитуды пейсмейкерной волны. Более высокие дозы спирта закрывают и Na^+ -каналы, что ведет к уменьшению амплитуды ПД.

ЛИТЕРАТУРА

- 1. Костюк П. Г., Магира И. С. Физиол. журн., 50, 3, 267—277, 1984.
- 2. Puszta J., Detary L., Szenazi G. In: Neurobiology of Invertebrates, Budapest, 1976, 111—117.
- 3. Wald F. J. Physiol., 220, 2, 256—266, 1972.

ეთილის სპირტის გავლენა ვაზის ლოკოკინას ნეირონების
პეისმეკერულ აქტიობაზე

3. შარვაშიანი, ნ. სერგეენკო

საქართველოს მეცნიერებათა აკადემიის კიბერნეტიკის ინსტიტუტი, თბილისი

რეზიუმე

შესწავლილია ეთილის სპირტის გავლენა ვაზის ლოკოკინას ნეირონების პეისმეკერულ აქტიობაზე. ნაჩვენებია, რომ მცირე კონცენტრაციების გავლენით ნეირონის პეისმეკერულ ქმედების პოტენციალი გენერირების სიხშირე მატულობს. მაღალი კონცენტრაციის სპირტი თრგუნავს ნეირონის პეისმეკერულ აქტიობას.

კონცენტრაციის შემდგომი ზრდა კი იწვევს ნეირონის მიერ იმპულსთა გენერირების უნარის დაკარგვას. იმ შემთხვევაში, როდესაც სპირტის კონცენტრაციის ასეთი ზემოქმედება არ აღემატება 10 წუთს, ნეირონის სუფთა რინგერის ხსნარით გამოორეცხვა აღადგენდა მის პეისმეკერულ აქტიობას.

THE ACTION OF ETHYL SPIRITUS ON PACEMAKER
ACTIVITY OF HELIX

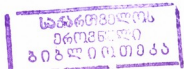
V. PARTSVANIA, N. SERGEENKO

Institute of Cybernetics, Academy of Sciences Republic of Georgia, Tbilisi

Summary

The ethyl spiritus action on the pacemaker activity of neurons of Helix Spiritus was studied. It is shown that low concentrations of spiritus causes the increase of the pacemaker firing frequency of neuron. The high concentrations of

spiritus inhibits the pacemaker activity. Father increasing of this concentration is followed by loozing ability by the neuron impulse generator. The removal of spiritus by Ringer solution during 10 minutes restore pacemaker activity.



УДК 61.018 — 599742.7

ГИСТОЛОГИЯ

УЛЬТРАСТРУКТУРНАЯ ОРГАНИЗАЦИЯ ОЛИГОДЕНДРОЦИТОВ НИЖНИХ БУГРОВ И ВНУТРЕННЕГО КОЛЕНЧАТОГО ТЕЛА ГОЛОВНОГО МОЗГА КОШКИ

И. Л. Лазриев, Т. Г. Лордкипанидзе

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

Поступила в редакцию 02.04.91

Изучена ультраструктура олигодендроцитов центрального ядра задних бугров четверохолмия (ЦЯЗБ) и вентрального ядра внутреннего колленчатого тела (ВЯВКТ) головного мозга кошки. Олигодендроциты этих ядер имеют высокую электронно-оптическую плотность ядра и цитоплазмы и по ультраструктуре в целом не отличаются от олигодендроцитов серого вещества других областей мозга. Олигодендроциты ЦЯЗБ содержат значительное число лизосом и плотных включений. В обоих ядрах эти клетки часто входят в состав клеточных ассоциаций. В большинстве случаев соседства перикарионов олигодендроцита и нейрона между ними расположен тонкий пластинчатый отросток астроцита. К олигодендроцитам прилегают отростки астроцитов, миелиновые нервные волокна и, реже, дендриты и пресинаптические терминалы.

Проблема структурно-функциональной организации нейроглии и нейроно-глиальных взаимоотношений привлекает все большее внимание нейробиологов. За последнее десятилетие получены новые экспериментальные доказательства важной роли нейроглии в трофике и гомеостазе мозга, в процессах миелинизации, в изоляции рецептивной поверхности нейрона от окружающих нервных элементов, в генерации длительных электрических потенциалов мозга и др. (см., например, [14]). Для дальнейшего прогресса этого направления нейробиологии немаловажное значение имеет изучение особенностей структурной организации нейроглиальных клеток различных образований головного мозга, в частности сенсорных систем. В этом аспекте весьма подходящей для исследования является слуховая система, представляющая собой одну из наиболее сложно организованных сенсорных систем. Основной слуховой

путь от спирального узла до коры больших полушарий проходит через кохлеарные ядра, комплекс верхней оливы, задние бугры четверохолмия, внутреннее колленчатое тело. При этом хорошо известно, что от кохлеарных ядер до коры больших полушарий усложняется уровень не только анализа конкретных характеристик звуковых сигналов, но и интегративных процессов [1, 2, 5, 7 и др.]. Сравнительно-морфологическое исследование нейроглии и нейроно-глиальных отношений позволит приблизиться к выяснению роли глиальных клеток в обеспечении как надежности и эффективности приема и передачи сенсорной импульсации, так и более сложных процессов деятельности этих центров.

В данной работе представлены результаты исследования ультраструктуры макроглиальных клеток ЦЯЗБ и ВЯВКТ головного мозга кошки.

Исследования проведены на половозрелых кошках обоих полов (6 случаев). Головной мозг наркотизированных этаминалом натрия (40 мг/кг) животных перфузировали 2,5%-ным раствором глутаральдегида на фосфатном буфере. Через 30—40 мин после перфузии маленькие кусочки ЦЯЗБ и ВЯВКТ погружали в 1,5%-

ный раствор четырехокси осмия на 2 ч. После дегидратации материал заключали в аралдит по общепринятой методике. Тонкие срезы (40—60 нм) контрастировали раствором лимоннокислого свинца и исследовали в электронном микроскопе JEM-100C («JEOL», Япония).

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

В ВЯВКТ, как и в других областях центральной нервной системы, олигодендроциты легко можно идентифицировать благодаря высокой электронно-оптической плотности ядра и цитоплазмы (рис. 1Б). Эти клетки характеризуются наличием большого, занимающего основную часть сомы и расположенного эксцентрично, ядра с хорошо выраженными зонами рыхлого и компактного хроматина. Глубоки гетерохроматина расположены как около ядерной оболочки, так и в центральных участках ядра. Межмембранное пространство ядерной оболочки местами расширено, наружная мембрана мелкоизвилиста и покрыта рибосомами. Значительная часть ядра окружена узкой каемкой цитоплазмы, основная же масса последней сконцентрирована у одного полюса клетки; в этой области наблюдается скопление профилей гранулярной эндоплазматической сети и пластинчатого комплекса, занимающего перинуклеарное положение, слегка удлиненных митохондрий с хорошо развитыми кристами и плотным матриксом, беспорядочно разбросанных микротрубочек. Высокая электронно-оптическая плотность цитоплазмы обусловлена не только высокой осмиофильностью матрикса, но и наличием значительного числа полисом. В олигодендроцитах ВЯВКТ лишь иногда можно обнаружить лизосомы и плотные тела (рис. 1Б, 3).

В отличие от олигодендроцитов ВЯВКТ, в олигодендроцитах ЦЯЗБ содержится значительное число лизосом и плотных включений (рис. 2А), в них относительно слабо развиты белкосинтезирующие структуры — полисомы и гранулярная эндоплазматическая сеть; последние представлены

в виде коротких и, нередко, набухших профилей.

В свете новых теорий и гипотез о роли нейроглии в электрогенезе мозга, в образовании временных связей и др. немаловажное значение имеет изучение морфологии взаимоотношений нейроглии, в частности олигодендроцитов, с окружающими структурами. Как в ВЯВКТ, так и в ЦЯЗБ олигодендроциты часто расположены в непосредственной близости нейрона. Когда плазматические мембраны нейрона и олигодендрокита прилежат друг к другу, между ними не наблюдаются какие-либо специализированные контакты, не изменена также и ширина межклеточной щели.

Непосредственное прилегание плазматических мембран перикариона нейрона и олигодендрокита в обоих изученных ядрах наблюдается редко, чаще при соседстве олигодендрокита с перикарионом нейрона между ними расположен тонкий пластинчатый отросток астроцита (рис. 1Б, 2Б), т. е. большинство олигодендроцитов, принимаемые при светооптических исследованиях за сателлиты, в действительности таковыми не являются.

Нейрон и клетку-сателлит многие исследователи рассматривают как единую морфо-функциональную систему, в которой процессы белкового метаболизма и энергозатрат взаимосвязаны [3, 9, 12 и др.]. По-видимому, такая взаимосвязь более эффективна при истинном сателлитозе — когда олигодендрокит и нейрон неразграничены друг от друга астроцитарными отростками, так как в случае наличия между ними астроцитарного отростка создана сложная многофазная система: мембрана оли-

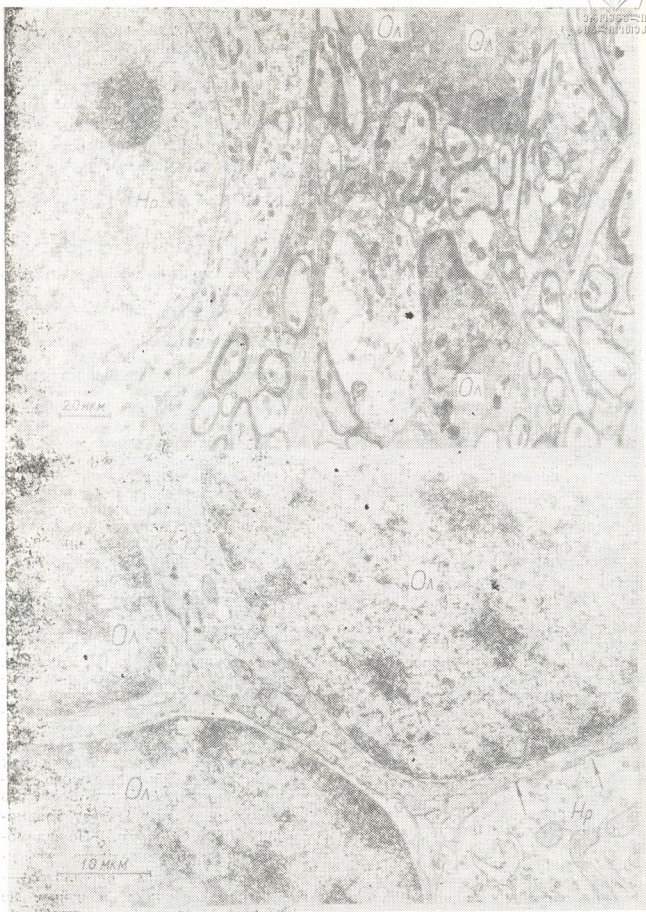


Рис. 1. А. ЦЯЗБ: группа, состоящая из нейрона (Hr) и олигодендроцитов (Ol). ×700;
Б—ВЯВКТ клеточная ассоциация, состоящая из трех олигодендроцитов (Ol) и нейрона (Hr); стрелками указан тонкий астроцитарный отросток. × 25 000

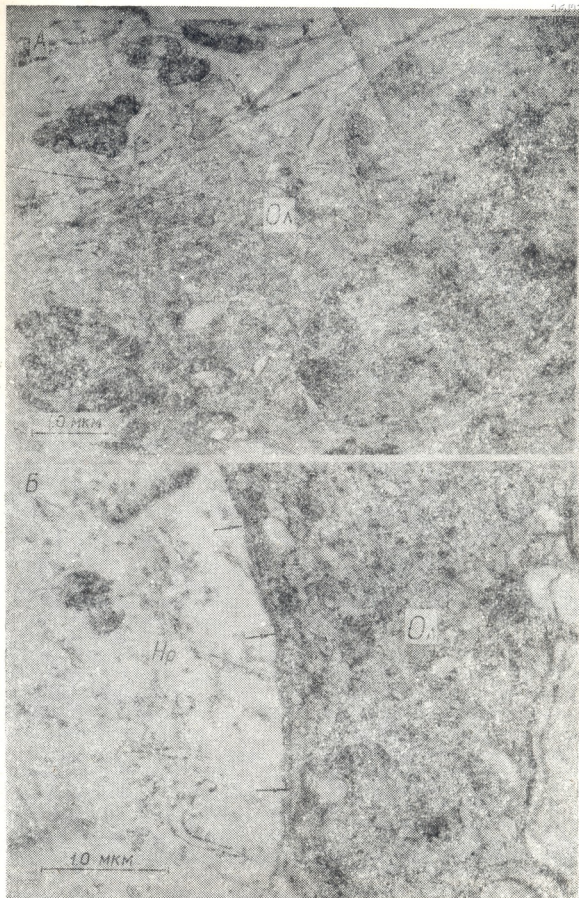


Рис. 2. А.—ЦЯЗБ: олигодендроцит (Ол) содержит большое число лизосом и плотных включений. $\times 24\,000$; Б.—ЦЯЗБ: между олигодендроцитом (Ол) и нейроном (Нр) расположены тонкие отростки астроцита (указаны стрелкой). $\times 35\,000$

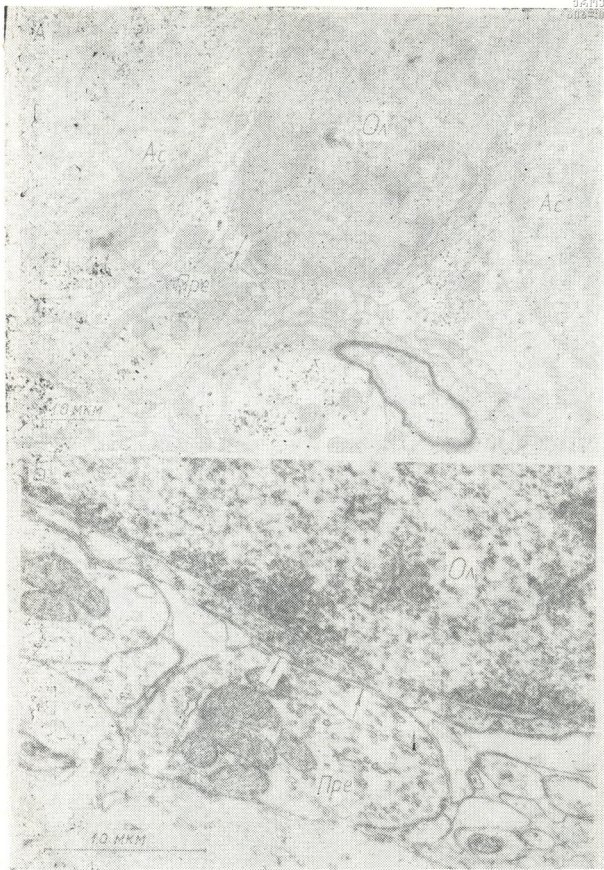


Рис. 3 А. ВЯВКТ: группа, состоящая из олигодендроица (Ол) и двух астроцитов (Ас); стрелкой указано непосредственное прилегание пресинаптической терминали (Пре) к олигодендроицу. $\times 20\ 000$; Б—ВЯВКТ: мембраны олигодендроица (Ол) и пресинаптической терминали (Пре) отграничены друг от друга тонким астроцитарным отростком (указано стрелками). $\times 45\ 000$

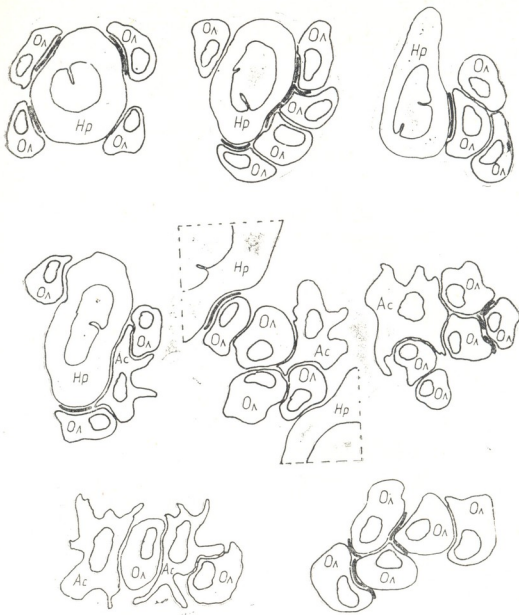


Рис. 4. Схематическое изображение клеточных ассоциаций различных видов; толстыми линиями обозначены тонкие астроцитарные отростки

годендрокита — межклеточное пространство — мембрана астроцита — цитоплазма астроцита — мембрана астроцита — межклеточное пространство — мембрана нейрона.

В изученных ядрах слуховой системы олигодендроциты часто входят в состав клеточных ассоциаций, состоящих из 3—10 клеток—нейронов, ологодендроцитов и астроцитов (рис. 4). Как правило, в такие ассоциации входит не более двух нейронов и астроцитов, число же олигодендроцитов достигает семи. Клеточные ассоциации по своему составу могут быть весьма разнообразными. Описанное выше явление прилегания нейрона и

олигодендроцита является одним из вариантов клеточной ассоциации. В таких ассоциациях центральное место обычно занимает перикарион нейрона, к которому прилежат несколько олигодендроцитов (рис. 1); последние расположены или подряд и, в свою очередь, прилежат друг к другу, или же заметно отдалены друг от друга. Наблюдаются и такие случаи, когда в ассоциации, состоящей из нескольких олигодендроцитов и нейрона, к последнему прилежит только одна глиальная клетка. Иногда ассоциация состоит из двух нейронов и расположенных между ними олигодендроцитов. Клеточные ассоциации другого вида состоят только из глиальных клеток—олигодендроцитов или



же олигодендроцитов и астроцитов (рис. 3А). Ширина межклеточной щели между плазматическими мембранами прилежащих олигодендроцитов составляет около 20—25 нм; мембраны клеток извилисты и местами образуют области специализированного контакта, характеризующиеся высокой электронно-оптической плотностью прилежащих мембран. Какая-либо специализация между мембранами прилежащих друг к другу астроцита и олигодендроцита нами не обнаружена.

К соматическим и перинейрональным, а также входящим в состав клеточных ассоциаций олигодендроцитов, прилегают, в основном, отростки астроцитов (рис. 1, 2А, 3), миелиновые нервные волокна (рис. 1А, 2) и, реже, дендриты и пресинаптические терминали (рис. 1А, 3). В изученных нами ядрах в большинстве случаев пресинаптические терминали ограничены от олигодендроцитов тонким пластинчатым отростком астроцита (рис. 3Б). В обоих изученных нами ядрах какие-либо различия в характере распределения структур, ок-

ружающих олигодендроциты, нами не были обнаружены.

Таким образом, описанные структурные взаимоотношения олигодендроцитов с нервными клетками позволяют нам заключить, что олигодендроциты могут быть подвержены влиянию изменения состава межклеточной жидкости, в частности концентрации ионов К, вызванной возбуждением нервных элементов. Электрофизиологическими исследованиями показана исключительная чувствительность глиальной мембраны к изменениям концентрации К в межклеточной жидкости [6, 10, 11, 13].

По предположению ряда исследователей [4, 8 и др.], деполяризация глиальных клеток может происходить посредством влияния медиатора, выделяющегося в синаптической щели в процессе синаптической передачи. Согласно нашим данным, в ЦЯЗБ и ВЯВКТ олигодендроциты не должны быть подвержены такому влиянию, так как даже в редких случаях соседства олигодендроцита и пресинаптической терминали, мембрана олигодендроцита значительно удалена от активной зоны синапса.

ЛИТЕРАТУРА

1. Бару А. В. Слуховые центры и опознавание звуковых сигналов, «Наука», Л., 1978.
2. Ивентов А. С., Макаров Ф. Н., Гранстрем Э. Э., Рыбаков В. Л. Архитектоника синапсов и организации связей коры головного мозга, «Наука», Л., 1990.
3. Коган А. Б., Гусатинский В. Н. В кн.: Функции нейроглии, «Мецниереба», Тбилиси, 1987, 40—49.
4. Микеладзе А. Л., Ройтбак А. И., Дзамоева Э. И. ДАН СССР, 200, 4, 970—972, 1971.
5. Радионова Е. А. Анализ звуковых сигналов в слуховой системе, «Наука», Л., 1987.
6. Ройтбак А. И., Фанарджян В. В. ДАН СССР, 211, 3, 748—751, 1973.
7. Серков Ф. Н. Электрофизиология высших отделов слуховой системы, «Наукова Думка», Киев, 1977.
8. Hamprecht B., Kamper W., Amano T. Brain Res., 101, 1, 129—139, 1976.
9. Nyden H., Egyhazi E. Proc. Nat. Acad. Sci., 49, 618—624, 1963.
10. Kettenmann H. In: Функции нейроглии, «Мецниереба», Тбилиси, 72—80.
11. Kuffler S. W., Potter D. D. Neurophysiol., 27, 2, 290—320, 1964.
12. Pevzner J. In: Handbook of Neurochemistry, «Plenum Publ. Corp.», New York, 1, 1982, 357—395.
13. Ransom B. R., Connors B. W. In: Функции нейроглии, «Мецниереба», Тбилиси, 1987, 81—90.
14. Roitbak A. I. Neuroglia, "J. Fischer-Verlag", Jena, 1983.

კატის თავის ტვინის ოთხგორაკის ჰვედა ბორცვების და მედიალური დამუხლული სხეულის ოლიგოდენდროციტების ულტრასტრუქტურული ორგანიზაცია

ი. ლაზრევი, თ. ლორთქიფანიძე

საქართველოს მეცნიერებათა აკადემიის ი. ბერიტაშვილის სახელობის ფიზიოლოგიის ინსტიტუტი, თბილისი

რეზიუმე

შესწავლილია კატის თავის ტვინის ოთხგორაკის ჰვედა ბორცვების ცენტრალური ბირთვისა და მედიალური დამუხლული სხეულის ვენტრალური ბირთვის ოლიგოდენდროციტების ულტრასტრუქტურა. ორივე ბირთვის ოლიგოდენდროციტებისათვის დამახასიათებელია ციტოპლაზმისა და ბირთვის მაღალი ელექტრონულ-ოპტიკური სიმკვრივე და მათი ულტრასტრუქტურა ძირითადად არ განსხვავდება თავის ტვინის სხვა უბნების რუხი ნივთიერების ოლიგოდენდროციტების ულტრასტრუქტურისაგან. ოთხგორაკის ჰვედა ბორცვების ოლიგოდენდროციტებში

შეიცავენ დიდი რაოდენობით ლიზოსომებს და მკვრივ ჩანართებს. ორივე ბირთვში ხშირად ეს უჯრედები შედიან უჯრედულ ასოციაციათა შემადგენლობაში. უმეტეს შემთხვევაში ოლიგოდენდროციტისა და ნეირონის პერიკარიონის მეზობლად განლაგებისას მათ შორის მოთავსებულია ასტროციტის თხელი ფირფიტო-სებრი მორჩები. ოლიგოდენდროციტთა სხეულებთან განლაგებულია ასტროციტთა მორჩები, მიელინური ნერვული ბოჭკოები და, უფრო იშვიათად, დენდრიტები და პრესინაფსური ტერმინალები.

ULTRASTRUCTURAL ORGANIZATION OF OLIGODENDROCYTES IN INFERIOR COLLICULUS AND MEDIAL GENICULATE BODY OF CAT'S BRAIN

I. LAZRIEV, T. LORDKIPANIDZE

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

S u m m a r y

The ultrastructure of oligodendrocytes in the Central Nucleus of Inferior Colliculus (IC) and Ventral Nucleus of Medial Geniculate Body (MGB) of cat's brain was studied. The obtained results suggest that oligodendrocytes of these nuclei have a high electron-optical density of nucleus and cytoplasm ultrastructurally not distinguished from the oligodendrocytes in other regions of brain. Oligodendrocytes of IC contain a

numerous lisosomes and dense bodies. These cells frequently were contained in the various cell associations. Mostly the thin astrocytic processes were observed between neighbouring pericaria of oligodendrocyte and neuron. The oligodendrocytes were surrounded with processes of astrocytes, myelinated nerve fibers, and more seldom with dendrites and presynaptic terminals.

УДК 591.436-2:615.439.11

ГИСТОЛОГИЯ

МОРФОЛОГИЧЕСКАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА ПОВРЕЖДЕНИИ ПЕЧЕНИ ПРИ ВОЗДЕЙСТВИИ ПОСТОЯННОГО МАГНИТНОГО ПОЛЯ

З. Г. Цагарели, В. И. Палеха

Институт экспериментальной морфологии им. А. Н. Нативили АН Грузии, Тбилиси

Поступила в редакцию 28.01.91

При экспериментальном воздействии на крыс постоянного магнитного поля средней напряженности с увеличением экспозиции равномерно нарастают от ранних сроков наблюдения к более поздним нарушения структуры печеночной ткани.

Широкое применение магнитных полей в различных сферах деятельности человека породило проблему влияния этих полей на живой организм. В настоящее время имеются многочисленные публикации, описывающие биологические эффекты электромагнитных излучений. В связи с существующим сейчас делением органов и систем организма на «шоковые», наиболее чувствительные к действию магнитных полей, и «нешоковые» накоплено множество данных по «шоковым» органам и недостаточно изучены органы, не относящиеся к ним, например такие, как печень. Установлено, однако, что деление это весьма условно, так как воздействие магнитного поля на тот или иной орган зависит в большой степени от его физиологической нагруженности. В частности, сосудистые нарушения обнаруживаются практически во всех органах у животного, испытывавшего воздействие электромагнитного излуче-

ния [9]. Известно также, что выраженность и исход патологического процесса в печени определяются адекватно-репаративной реакцией клеток, в большей мере зависящей от структурно-функционального своеобразия клетки [5, 6]. Хотя возникающие нарушения, как правило, не носят катастрофического характера и после прекращения воздействия магнитного поля большинство нарушенных структур печеночной ткани восстанавливается [9], однако обнаружение достоверных эффектов, выявление условий, способствующих их проявлению, имеет существенное значение для углубления наших знаний о природе этого явления.

Задачей данного исследования явилось изучение морфологических изменений, развивающихся в печени крыс при воздействии на организм постоянного магнитного поля средней напряженности.

МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Работа выполнена в весенне-летнее время при температуре окружающей среды 24°C на 20 белых крысах-самцах с исходной массой тела 150—180 г, при воздействии постоянного магнитного поля напряженностью 200 Э с экспозицией 1 ч в течение су-

ток (1-я серия опытов), 5 суток (2-я серия опытов), 15 суток (3-я серия опытов) и 30 суток (4-я серия опытов).

Контролем служила группа из 5 здоровых белых крыс-самцов с исходной массой 150—180 г.



Был использован соленоид, изготовленный в производственном объединении «Электровозостроитель» (Тбилиси) и установленный в Институте геофизики АН Грузии. Его внутренние габариты: диаметр — 500 мм, длина — 120 см. Наружные габариты: диаметр — 600 мм, длина — 120 см. Высота соленоида с учетом немагнитной подставки — 130 см. Блок питания обеспечивает постоянный ток от 0 до 40 А.

Забой животных производился по нембуталовым наркозом в течение часа после прекращения воздействия магнитного поля.

Кусочки печени фиксировали в 10%-ном растворе нейтрального формалина.

Парафиновые срезы толщиной 5—7 мкм окрашивали гематоксилином и эозином, соединительную ткань выявляли пикрофуксином по методу ван Гизона.

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

Проведенные исследования показали, что при воздействии на организм постоянного магнитного поля средней напряженности (200 Э) наиболее чувствительным звеном в печени крыс является микроциркуляторная система и мембранные структуры. Причем, с увеличением времени воздействия магнитного поля отмеченные нарушения микроциркуляции нарастают: происходит разволокнение соединительнотканной стромы печени, в сосудах — стаз и агрегация эритроцитов, а также нарушение целостности клеточной оболочки гепатоцитов, что хорошо согласуется с имеющимися литературными данными о мембранах как месте приложения воздействия магнитного поля [9]. По данным М. М. Серых и соавт. [7], а также исходя из выводов И. А. Удинцева, В. В. Мороза [8] и других авторов можно предположить, что в значительной степени действие магнитного поля на организм опосредуется через гипофизарно-надпочечниковую систему, играющую большую роль в выработке адаптационных реакций. Эти данные подтверждаются выводами Т. Г. Гаприндашвили [3] о ведущей роли гиперкатехоламинемии в механизме повреждающего действия постоянного магнитного поля вследствие активации кортикальной функции надпочечников, секреторной функции почек и нарушения электролитного баланса организма [7, 8, 3].

В нашем эксперименте уже спустя 1 сутки после электромагнитного воздействия в печени крыс отмечаются диффузные кровоизлияния, которые располагаются, как правило,

вблизи центральных вен. Нарушается радиальная направленность печеночных трабекул, встречается застой крови в центральных (рис. 1а) и воротных венах триад. Отмечается разрыв адвентиция ряда сосудов: целостность стенок собирательных вен и печеночных артерий в триадах нарушается (рис. 2). Синусоидные кровеносные капилляры всех зон ацинусов расширяются.

С увеличением экспозиции (на 5, 15 и 30-е сутки эксперимента) деструктивные изменения паренхиматозной ткани, а также нарушения микроциркуляции нарастают: почти во всех венах триад и центральных венах отмечается застой крови (рис. 3), синусоидные кровеносные капилляры сильно расширены и, в отличие от ранних сроков, уже содержат агрегированные эритроциты (рис. 4). Особенно значительные изменения происходят в 3-й зоне ацинусов. Здесь располагаются участки некроза паренхимы, встречаются гепатоциты в состоянии лизиса.

На поздних сроках эксперимента наблюдается расширение пространства Диссе, звездчатые ретикулоэндотелиоциты выбухают в просвет капилляра (рис. 3). По данным литературы [1, 2, 4, 11] в печени под влиянием непродолжительного (1—7 ч) действия магнитного поля средней напряженности (до 7000 Э) происходит набухание звездчатых ретикулоэндотелиоцитов. Тот факт, что в нашем эксперименте эти клетки стали хорошо различимы только на последней стадии эксперимента (при сроке 30 суток), связан, вероятно, с

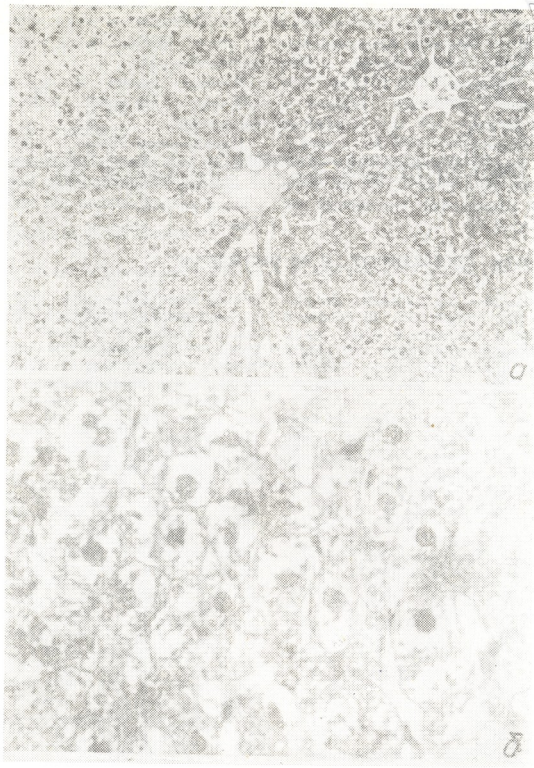


Рис. 1а. Печень крысы спустя 1 сутки эксперимента. III зона ацинусов: а — межклеточный отек, разрывы отдельных тяжей печеночных трабекул, застой крови в центральных венах; окраска гематоксилин-эозином, $\times 50$; б — вакуолизация цитоплазмы гепатоцитов, карноплазма уплотнена, границы между гепатоцитами нечеткие, в отдельных местах разрыв клеточной оболочки; окраска гематоксилин-эозином, $\times 200$

тем, что напряженность магнитного поля в нашем эксперименте была значительно ниже.

Уже на ранних сроках эксперимента (1—5 дней) цитоплазма большин-

ства гепатоцитов была сильно просветлена, вакуолизирована, а карноплазма уплотнена (рис. 1б). Исследованиями Гузински и Носола [10] было показано, что под воздействием

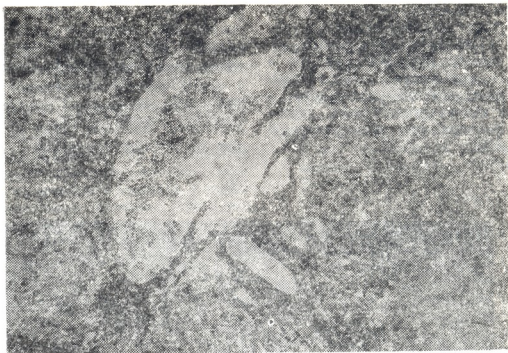


Рис. 2. Печень крысы спустя 1 сутки эксперимента: нарушение целостности стенки вены триады, в просвете вены—стаз и агрегация эритроцитов; окраска по ван Гизону. $\times 50$

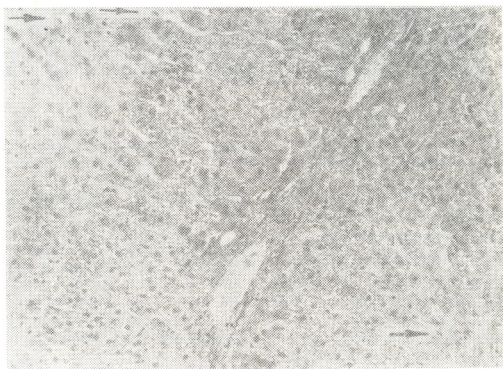


Рис. 3. Печень крысы спустя 30 суток эксперимента: стаз в венах триад; расширение пространства Диссе; в просвете капилляра—звездчатые ретикулоэндотелиоциты (σ); окраска по ван Гизону. $\times 50$

магнитного поля проницаемость биологических мембран клеток для ионов К, Na, Са, Fe, P меняется, про-

исходит перераспределение в клетках ионов Na и K. Можно предположить, что, отмеченное нами набухание ге-

патоцитов компенсирует альтерирующее действие концентрационных градиентов, а обнаруженная этими авторами перегруппировка рибосом и ядерного хроматина обеспечивает адаптацию и выживаемость клеток в условиях воздействия такого патогенного фактора, как электромагнитное поле [10].

В сериях эксперимента наименее пострадали желчные протоки. Отдельные клетки их кубического эпителия, хотя и неплотно прилегают друг к другу, однако их стенки на всех сроках эксперимента сохранили целостность. Артерии триад по степени патологических изменений занимают

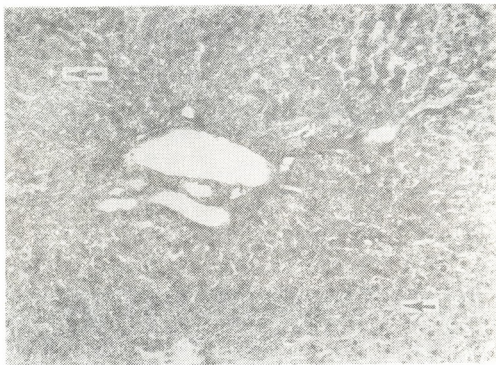


Рис. 4. Печень крысы спустя 5 суток эксперимента. Синусоидные кровеносные капилляры расширены; в просвете—агрегация эритроцитов (♂); окраска по ван Гизону. $\times 50$

Говоря об изменениях в гепатоцитах в нашем эксперименте, нужно отметить, что в отличие от ранних сроков, и в особенности от срока в 1 день, когда развитие патологического процесса направлено в сторону вакуолизации цитоплазмы и меньше затрагивает ядро, на поздних сроках наибольшему патологическому изменению подвергается именно ядро при относительно лучшем состоянии цитоплазмы. Здесь клетки с вакуолизированной цитоплазмой встречаются редко; как правило, она зернистая, компактная, однако лизис ядер в гепатоцитах увеличивается.

Из элементов триады во всех четы-

промежуточное положение между ними и венами триад.

Таким образом, при изучении влияния постоянного магнитного поля средней напряженности на печень крыс в разные сроки воздействия были выявлены значительные морфологические изменения как на уровне сосудов, так и на уровне клетки. Причем, если на ранних сроках наблюдения воздействие патогенного фактора направлено на изменение структуры стенок крупных сосудов и особенно центральных вен, а также вакуолизацию цитоплазмы гепатоцитов, то в более поздние сроки наблюдения деструктивные процессы нарастают и принимают необратимый характер.

1. Африканова Л. А. В кн.: Влияние магнитных полей на биологические объекты, Калининград, 1975, 210—211.
2. Галантук С. И. В кн.: Применение магнитных полей в клинике. Куйбышев, 1976, 167—169.
3. Гаприндашвили Т. Г. Изменение некоторых параметров гомеостаза, влияющих на метаболизм миокарда, и морфофункционального состояния сердца под воздействием постоянного магнитного поля в эксперименте, Автореф. канд. дисс., Тбилиси, 1987.
4. Музалевская Н. И. Физиологические проявления действия магнитного поля малой напряженности в диапазоне сверхнизких частот, Автореф. канд. дисс. Л., 1978.
5. Небольсина Л. М. Изв. АН СССР, сер. биол., 16, 1, 15—20, 1990.
6. Панин Л. Е. Биохимические механизмы стресса, «Наука», Новосибирск, 1983.
7. Серых М. М., Кленова Н. А., Мишина Н. В., Скрипичникова В. Г. В кн.: Сравнительная биохимия обмена веществ у животных, Куйбышев, 1980, 37—44.
8. Удинцев Н. А., Мороз В. В. Пат. физиол., 6, 72—76, 1976.
9. Холодов Ю. А. Человек в магнитной паутине (магнитное поле и жизнь), «Знание», М., 1972.
10. Guzinski G., Nosol B. Post. biol. Komórki, 11, 3—4, 411—412, 1984.
11. Isgrachi E., Karni L., Shur L. Israel J. med. sci., 7, 463—468, 1981.

ვირთავებს ღვიძლის დაზიანების მორფოლოგიური დახასიათება
მუდმივი მაგნიტური ველის ზემოქმედებისას

ზ. ცაგარელი, ვ. პალეხა

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

რეზიუმე

30 დღის განმავლობაში ყოველდღიურად ვირთავებს ორგანიზმზე ხდებოდა მუდმივი მაგნიტური ველის მოქმედება დღეში 1 სთ ექსპოზიციით. ღვიძლის მორფოლოგიურმა გამოკვლევებმა, ჩატარებულმა ექსპერიმენტის 1, 5, 15 და 30

დღეს, გამოავლინა სისხლძარღვთა კედლების დარღვევისა და პეპტოციტებში დისტროფიული ცვლილებების გაღრმავება ზემოქმედების ვადის გადიდებასთან ერთად.

MORPHOLOGICAL CHARACTERISTICS OF LIVER INJURY UNDER THE INFLUENCE OF CONSTANT MAGNETIC FIELD

Z. TSAGARELI, V. PALEKHA

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

Summary

The morphological changes in the rat liver under the influence of constant magnetic field of medium intensity (200 erst.) after 1,5,15 and 30 days of experiments under the exposition during 1 hour a day were studied.

It has been revealed that the growth of influence caused the disturbance of liver vessels walls and increased the duration of dystrophic changes in hepatocytes.

УДК 576.3.577.95

ЦИТОЛОГИЯ

ПРОЛИФЕРАТИВНАЯ АКТИВНОСТЬ ГРАНУЛЯРНЫХ КЛЕТОК ЗУБЧАТОЙ ИЗВИЛИНЫ ГИППОКАМПА КРЫС В ПРЕ- И ПОСТНАТАЛЬНОМ ОНТОГЕНЕЗЕ

Д. Н. Мачарашвили, И. К. Сванидзе, Н. Г. Монцелидзе

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

Поступила в редакцию 11.01.1991

Анализ пролиферативной активности гранулярных клеток зубчатой извилины показал, что уровень митотического индекса увеличивается в период эмбриогенеза. Согласно нашим данным пик митотической активности наблюдается на 1, 2, 3, 4 дни после рождения, а затем постепенно падает к 20 дню.

Проблеме нейрогенеза в центральной нервной системе посвящено большое число исследований. Являясь стабильной популяцией, подавляющее число нейронов после терминального митоза оказывается неспособным к пролиферации [1]. Однако в некоторых областях головного мозга процессы дифференцировки начинаются позднее и поэтому окончательное созревание клеток, а следовательно, и их митотическое деление завершается в постнатальном периоде. К подобным нейронам относятся гранулярные клетки зубчатой извилины гиппокампа [9, 8, 5, 12].

Согласно данным литературы начало и завершение митотических делений гранулярных клеток различных областей зубчатой извилины течет асинхронно. Выделены три основных

градиента постепенного увеличения числа клеток, вступающих в митоз: каудальноростральный, дорсовентральный, а также по направлению к схождение обеих плеч зубчатой извилины [14, 10].

В большинстве исследований анализ особенностей пролиферативной активности основан на подсчете числа меченых клеток. В настоящей работе изучалась динамика митотического индекса гранулярных клеток зубчатой фасции на разных этапах пре- и постнатального периода. Определение митотического режима гранулярных клеток необходимо для выбора оптимальных условий при трансплантации этой области гиппокампа, длительное время сохраняющей высокую пролиферативную активность.

МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Объектом исследования служила зубчатая извилина гиппокампа эмбрионов крыс 19 и 20 дней внутриутробного развития, а также на 1, 2, 3, 4, 7, 10, 15 и 20 дни постнатального развития. Возраст животных устанавливался со времени обнаружения сперматозондов в мазках, взятых из влагалища. С целью торможения митотических делений на стадии метафазы беременным самкам, а также новорожденным крыскам за 4 ч до взятия материала внутрибрюшинно

вводился колхицин в соотношении 1 г на 1 г веса животного. Согласно существующим данным колхицин в высоких концентрациях избирательно разрушает клетки зубчатой извилины гиппокампа половозрелых крыс [13]. Исползованная нами же концентрация колхицина не оказывала влияния на морфологию гранулярных клеток, ингибируя лишь развитие нитей веретена.

После фиксации в жидкости Карнуа и соответствующей гистологиче-



ской обработки материал заливался в парафин и раскладывался на фронтальные срезы толщиной 10 мк, после чего окрашивался кризил-виоле-

том. Число митозов подсчитывалось на 1000 клеток. Полученный материал обрабатывался по t-критерию Стьюдента [2].

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

Камбиальные области, клетки которых принимают участие в формировании зубчатой извилины, представлены разными популяциями в зависимости от периода онтогенеза. В эмбриональном периоде камбиальной областью служит желудочная зона на вентральной стенке бокового желудочка. На ранних этапах постнатального развития деление клеток происходит преимущественно во внутренней зоне гранулярного слоя (субгранулярная зона) [3].

Анализ пролиферативной активности гранулярных клеток зубчатой извилины показал, что митотический индекс увеличивается в период эмбриогенеза ($P < 0,01$). Пик митотической активности наблюдается (рис. 1).

результатами, полученными методом автордиографии [6].

Особенно резко падает митотическая активность на 15-й день. Согласно существующим данным [4], падение числа меченных ^3H -тимидином клеток к 15 дню объясняется постепенной редукцией этой зоны. На 5 и 7-й день постнатального развития, помимо митотических делений в толще слоя гранулярных клеток дорсального и вентрального плеча зубчатой извилины, митотические деления можно обнаружить в полиморфном слое. В то же время не всегда удается идентифицировать локализацию таких клеток, поскольку они могут находиться на границе с камбиальной зоной гранулярного слоя (суб-

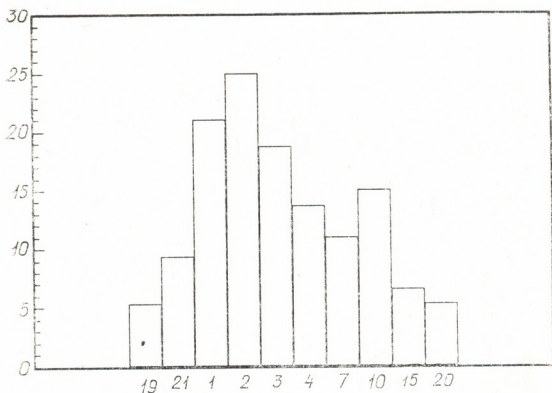


Рис. 1. Динамика количества митозов гранулярных клеток зубчатой извилины на разных этапах онтогенеза белой крысы; на оси ординат — число митозов на 1000 клеток; на оси абсцисс — дни натального (19, 20) и постнатального (1, 2, 3, 4, 7, 10, 15, 20) развития

на 1, 2, 3 и 4 дни после рождения (различия между числом митозов этих возрастов недостоверно), а затем постепенно падает к 20 дню ($P < 0,01$). Эти данные совпадают с ре-

зультирующей камбиальной зоной (субгранулярная зона). На смещение пролиферативной активности гранулярных клеток с вентрального плеча зубчатой извилины у эмбрионов в область полиморфного слоя у 5 и 7-

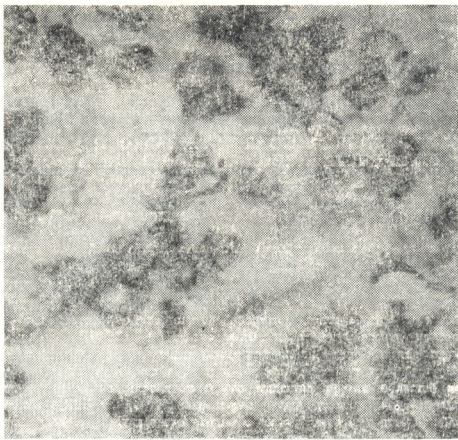


Рис. 2. Профаза гранулярной клетки в полиморфном слое зубчатой извилины; крезил-виолет; ув. 7 x 40



Рис. 3. Фрагментация хромосомов в профазе. Гранулярная клетка субгранулярной зоны зубчатой извилины; крезил-виолет; ув. 7 x 40

дневных животных [11, 14] указывают профазы, часто встречающиеся в полиморфном слое (рис. 2). Диаметр ядер таких клеток в несколько раз превышает диаметр ядер глии.

Изучение фаз делящихся клеток позволило обнаружить клетки с нарушенным течением митоза, причем максимум нарушений наблюдался на 1—2 дни после рождения, т. е. когда митотический индекс являлся наибольшим. Нарушения заключались в фрагментации хромосом в профазе (рис. 3), что, возможно, является начальным этапом последующего пикноза части ядер делящихся клеток. Изменение течения митотического процесса наблюдалось и на последу-

ющих фазах, однако, оно вызвано влиянием колхицина (К-митоз) и к этому в настоящей работе не рассматривается.

Полученные нами данные показывают, что наибольшая митотическая активность в камбиальных зонах зубчатой фасции головного мозга крыс наблюдается в первые дни после рождения. Можно предполагать, что этот период является наиболее благоприятным для трансплантации зубчатой извилины в мозг реципиента. В то же время следует принять во внимание, что повреждение извилины не стимулирует пролиферативную активность гранулярных клеток [6].

ЛИТЕРАТУРА

1. Грачева Н. Д. Авторадиография синтеза нуклеиновых кислот и белков в нервной системе, «Наука», Л., 1968.
2. Ойвин И. М. Патологическая экспериментальная терапия, 4, 1960.
3. Резников К. Ю. Онтогенез, 6, 2, 1975, 169.
4. Резников К. Ю. Онтогенез, 6, 3, 1975, 242.
5. Резников К. Ю. Цитологические механизмы гистогенезов, «Наука», М., 1979.
6. Резников К. Ю. Пролиферация клеток мозга позвоночных в условиях нормального развития мозга и при его травме, «Наука», М., 1981.
7. Altman J., Das G. Nature, 214, 1098—1101, 5093, 1967.
8. Angevine J. Exp. Neurol., Suppl., 2, 1—70, 1965.
9. Bayer Sh., J. Comp. Neurol., 190, 87—114, 1980.
10. Bayer Sh., Altman J. J. Comp. Neurol., 158, 1, 55—80, 1974.
11. Kaplan M., Hinds J. Science, 197, 4308, 1092—1094, 1977.
12. Polhe W. Biomed., Biochim. Acta, 46, 11, 795—802, 1987.
13. Schlessinger A., Cowan W., Gottlieb D. J. Comp. Neurol., 159, 2, 149—152, 1975.

ვირთაგვას ჰიპოკამპის დაკბილული ხვეულის გრანულარული უჯრედების პროლიფერაციული აქტიობა პრემ- და კონტნატალურ მონტოგენეზში

დ. მაჰარაშილი, ი. სვანიძე, ნ. მონცვილიძე

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

რეზიუმე

ვირთაგვას ჰიპოკამპის დაკბილული ხვეულის გრანულარული უჯრედების პროლიფერაციული აქტიობის შესწავლამ გვიჩვენა, რომ მიტოზური ინდექსი მატულობს ემბრიოგენეზის პერიოდში. ჩვენ

მონაცემების თანახმად მიტოზური აქტიობის პიკი შეიმჩნევა დაბადებიდან 1, 2, 3, 4 დღეს, შემდეგ თანდათანობით ეცემა მეოცე დღისთვის.

PROLIFERATIVE ACTIVITY OF RAT HIPPOCAMPAL DENTATE GYRUS
GRANULAR CELL DURING PRE — AND POSTNATAL ONTOGENESIS



D. MACHARASHVILI, I. SVANIDZE, N. MONTSELIDZE

J. Beritashvili Institute of Physiology, Georgian Academy of Sciences, Tbilisi

S u m m a r y

Study of rat hippocampal dentate gyrus granular cell proliferative activity reveals that mitotic index is increased during the embryogenesis. According to the present data peak of mitotic activity is observed on the 1, 2, 3, 4-th day after birth, and decreased slowly for the 20-th day.

ЗНАЧЕНИЕ НЕКОТОРЫХ ФАРМАКОКИНЕТИЧЕСКИХ ПОКАЗАТЕЛЕЙ ДИЛЗЕМА В ОПТИМИЗАЦИИ ЛЕЧЕНИЯ СТЕНОКАРДИИ

Н. Н. Кипшидзе, М. В. Окуджава, М. Д. Рухадзе

*НИИ экспериментальной и клинической терапии, Тбилиси
Тбилисский государственный университет им. И. Джавахидшвили*

Целью исследования являлась разработка оптимальной схемы лечения дилземом нестабильной стенокардии на основании изучения фармакокинетики этого препарата. Концентрацию дилзема определяли методом высокоэффективной жидкостной хроматографии. Для фармакокинетического исследования пробы крови брали спустя час после введения препарата и перед следующим введением. Путем многократного взятия крови определили все основные фармакокинетические показатели дилзема: время полувыведения $t_{1/2}$ —6ч, константу скорости элиминации k_{e1} —0,12 ч⁻¹, площадь под кривой AUC—2724 нг.ч. мл⁻¹, объем распределения V—79,4 л. На основании клинического эффекта и фармакокинетических показателей дилзема оптимальным был принят 12-часовой интервал между введениями препарата. При таком режиме лечения концентрация дилзема в крови спустя час после введения (C_1) была $366,7 \pm 39,6$ нг/мл, концентрация перед повторным введением, т. е. минимальная концентрация C_{\min} — $133,9 \pm 19,8$ нг/мл, общий клиренс K— $15,93 \pm 26$ л/ч, относительный клиренс ΔK — $0,186 \pm 0,025$ л/ч.кг. После 10-дневного курса лечения дилземом по такой схеме наблюдалась стабилизация клинического состояния и улучшение электрофизиологических данных, что давало возможность перехода на лечение пероральными препаратами.

Оптимизация фармакотерапии нестабильной стенокардии имеет большое значение, так как традиционные методы лечения этого заболевания часто оказываются малоэффективными. В лечении разных форм стенокардии в последнее время широкое распространение получили антагонисты кальция [1, 2, 7, 8]. К этой группе относится дилзем. В настоящее время внутривенная форма дилзема—дилзем—с успехом применяется для купирования тяжелых стенокардических приступов [2, 7, 8].

Наша работа ставила целью исследование фармакокинетики дилзема для выработки схемы курсового лечения нестабильной стенокардии данным препаратом.

Под наблюдением находились 16 больных (мужчины) с диагнозом нестабильной стенокардии. Их возраст

колебался от 51 до 71 года (средний возраст 60 лет). У всех больных электрокардиографически отмечались признаки ишемии сердца. До начала исследования частота сердечных сокращений в минуту равнялась $73,8 \pm 5$, систолическое артериальное давление— $133,8 \pm 11,8$ мм рт. ст., диастолическое артериальное давление— $80,1 \pm 3$ мм рт. ст. Ни у одного больного не было обнаружено нарушения функции почек и печени.

В течение 7—10 дней больным проводили лечение нитратами, β -блокаторами и таблетированными формами антагонистов кальция. На фоне лечения этими препаратами состояние больных улучшилось незначительно, стенокардические приступы вновь отмечались при легкой физической нагрузке, иногда и в состоянии покоя. Именно эта группа больных была переведена нами на лечение дилземом.

Больным внутривенно медленно вводили 25 мг дилзема, растворенного в 20 мл физиологического раствора. Для фармакокинетического исследования кровь брали через час после введения препарата и перед следующим введением. Для определения всех основных фармакокинетических показателей дилзема [3, 4, 5] в одном случае произвели четырехкратное взятие крови со следующими интервалами: через 1 ч, 2 ч 30 мин, 3 ч 30 мин, 12 ч после введения препарата.

Кровь после свертывания центрифугировали и выделенную сыворотку замораживали при -20°C . Концентрацию (C) препарата исследовали методом высокоэффективной жидкостной хроматографии [6]. Минимальная чувствительность метода 10 нг/мл.

вычислили площадь под кривой (AUC₀₋₁₂).

С помощью построения полулогарифмической кривой концентрация— время ($\lg C-t$) (рис. 2) мы определили исходную концентрацию (C_0) и время полувыведения ($t_{1/2}$).

Константа скорости элиминации (k_{el}) была вычислена по формуле

$$k_{el} = \frac{0,693}{t_{1/2}} ;$$

объем распределения (V) определяли по формуле

$$V = \frac{D \cdot t_{1/2}}{AUC \cdot 0,693} ,$$

где D — одноразовая доза препарата. Общий (K) и относительный (ΔK)

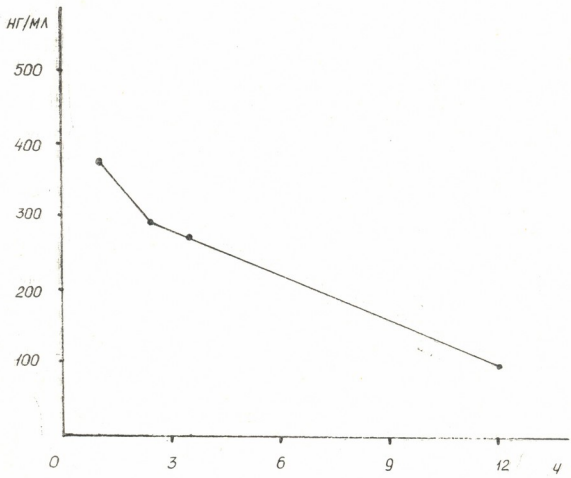


Рис. 1. Изменение во времени концентрации дилзема в крови после однократного внутривенного введения 25 мг препарата

На основании данных, полученных путем четырехкратного взятия крови после введения дилзема была построена кривая концентрация — время (рис. 1). Планиметрическим методом

клиренс рассчитывали по следующим формулам:

$$K = \frac{D}{\Delta t \cdot C_{ss}} ; \quad \Delta K = \frac{D}{\Delta t \cdot C_{ss} \cdot W} ,$$

где Δt — интервал времени между введениями; C_{ss} — равновесная концентрация; W — вес больного в килограммах.

взятых перед следующим введением, т. е. спустя 24 ч, концентрация дилзема не определялась. Таким образом в этих случаях не удалось получить

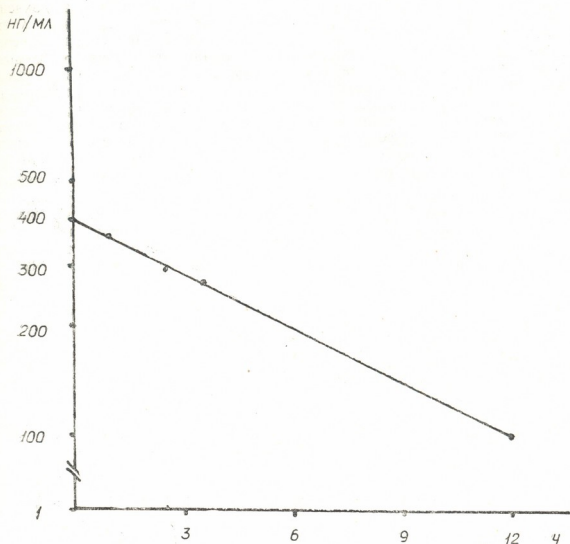


Рис 2. Изменение во времени концентрации дилзема в крови после однократного внутривенного введения 25 мг препарата в полулогарифмических координатах

Были получены следующие данные: AUC —2724 $нг \cdot ч \cdot мл^{-1}$, $t_{1/2}$ —6 ч, k_{el} — $0,12 ч^{-1}$, C_0 —400 $нг/мл$, V —79,4 л, K —20,8 л/ч, ΔK —0,23 л/ч. кг.

В течение 2 ч после первого введения дилзема мы контролировали артериальное давление и частоту сердечных сокращений.

В первой группе больных дилзем вводили интравенно с 24-часовыми интервалами (препарат вводили в 10.00 ч). При такой схеме лечения в течение дня состояние больных было удовлетворительное, но вечером и ночью вновь отмечались стенокардические приступы. Концентрация дилзема в крови спустя час после введения была 387 ± 20 $нг/мл$. В пробах,

стабильный уровень препарата в крови и, следовательно, стабильный фармакологический эффект. Наблюдалось резкое колебание препарата в крови.

Полученные нами высокие показатели клиренса и константы скорости элиминации, сравнительно короткое время полувыведения препарата, сделали очевидным необходимость уменьшения интервала между введениями дилзема. На этом основании больным этой группы дилзем начали вводить с 12-часовыми интервалами.

При таком режиме лечения интенсивность и частота болей в области сердца в первые же дни уменьшились. В покое стенокардических при-



ступов не было. На третий день лечения практически у всех больных стенокардические приступы прекратились. Концентрация препарата в крови спустя час после введения была 386 ± 22 нг/мл, а перед следующим введением, т. е. через 12 ч — $135,7 \pm 22,7$ нг/мл. Таким образом, при этом режиме введения дилзема минимальная концентрация оставалась на терапевтическом уровне. Стало возможным создание равновесной концентрации и, следовательно, получение стабильного клинического эффекта.

Схема лечения дилземом с 12-часовыми интервалами нами была принята оптимальной. Впоследствии всем больным, находящимся под нашим наблюдением, лечение с начала же проводили в таком режиме. При фармакокинетическом исследовании проб

ным поддержание полученного терапевтического эффекта при переходе на традиционные таблетированные препараты.

Изменения частоты сердечных сокращений и артериального давления до и после лечения дилземом приведены в табл. 2. При сравнении средних величин этих параметров выяснилось, что пульс в среднем уменьшился на 3,8 ударов в минуту — изменение хотя и небольшое, но достоверное ($p < 0,05$). Колебание систолического и диастолического давления не оказалось достоверным ($p > 0,05$). На этом основании можно предположить, что при лечении дилземом по подобранной нами схеме в случаях, когда нет артериальной гипертензии, тахи- и брадикардии, не выявляется отчетливый гипотензивный эффект,

Таблица 1

Некоторые фармакокинетические показатели дилзема при введении препарата с 12-часовыми интервалами

Интервал между введениями дилзема, Δt , ч	Минимальная концентрация, C_{\min} , нг/мл	Концентрация спустя час после введения дилзема C_1 , нг/мл	Клиренс общий, Кл/ч	Клиренс относительный, ΔK л/ч·кг
12	95	280	21,9	0,23
"	140	362	14,9	0,17
"	160	420	13,02	0,21
"	148	334	14,1	0,16
"	122	388	17,1	0,19
"	120	405	17,4	0,21
"	135	368	15,4	0,17
"	146	406	14,3	0,15
"	100	360	20,8	0,23
"	162	410	12,8	0,18
"	153	412	13,6	0,15
"	148	380	14,1	0,17
"	120	355	17,4	0,19
"	152	362	13,7	0,17
"	118	320	17,7	0,20
"	124	305	16,8	0,20
$M \pm m$ 12	$133,9 \pm 19,8$	$366,7 \pm 39,6$	$15,93 \pm 2,6$	$0,186 \pm 0,02$

крови были получены следующие данные (табл. 1): минимальная концентрация $133,9 \pm 19,8$ нг/мл, концентрация спустя час после введения дилзема $366,7 \pm 39,6$ нг/мл, общий клиренс $15,93 \pm 2,6$ л/ч, относительный клиренс $0,186 \pm 0,025$ л/ч·кг.

Продолжительность курса (10 дней) была подобрана на основании достижения твердого клинического и электрокардиографического эффекта. Именно после проведения такого курса лечения дилземом стало возмож-

частота сердечных сокращений уменьшается достоверно, но незначительно.

Таким образом, согласно полученным нами данным, терапевтический эффект дилзема зависит от его концентрационного уровня в крови и амплитуды концентрационного колебания. В случаях применения дилзема с 24-часовым интервалом наблюдалось резкое колебание содержания препарата в крови, минимальная концентрация не определялась, что, видимо, и является причиной неэффективно-



Изменения частоты сердечных сокращений, систолического и диастолического давления после 10-дневного курса лечения дилземом

Частота сердечных сокращений в минуту до лечения	Частота сердечных сокращений в минуту после лечения	Систолическое артериальное давление до лечения, мм рт. ст.	Систолическое артериальное давление после лечения, мм рт. ст.	Диастолическое артериальное давление до лечения, мм рт. ст.	Диастолическое артериальное давление после лечения, мм рт. ст.
76	74	150	150	80	80
62	68	130	130	80	80
80	70	140	130	80	80
70	72	140	120	90	80
68	68	150	150	90	90
78	72	140	130	80	80
72	64	120	130	80	80
76	70	130	120	80	70
80	72	110	110	70	70
76	72	120	120	80	80
68	68	140	140	80	80
72	70	120	120	80	80
78	64	130	120	80	80
72	70	130	130	80	80
76	72	150	140	80	80
80	74	140	140	80	75
$M \pm m$ 73,8 \pm 5	70 \pm 2,9<0,05	133,8 \pm 11,7	130 \pm 11>0,05	80,1 \pm 4,3	79 \pm 4,4>0,05

сти лечения. Контроль стенокардических приступов стал возможным при уменьшении интервала между введениями дилзема до 12 ч. После 10-дневного курса применения дилзема по подобранной нами схеме наблюдалась стабилизация клинического состояния и улучшение электрофи-

зиологических данных, что давало возможность перехода на традиционные методы лечения пероральными препаратами. На этом основании нами рекомендовано курсовое применение дилзема по описанному выше режиму для лечения резистентной нестабильной стенокардии.

ЛИТЕРАТУРА

1. Гасилин В. С., Сидоренко Б. А. Стенокардия, «Медицина», М., 1987, 158—190.
2. Метелица В. И. Справочник кардиолога по клинической фармакологии, «Медицина», М., 1987, 55—61.
3. Холодов Л. Е., Яковлев В. П. Клиническая фармакокинетика, «Медицина», 1985, 69—82.
4. Guelen P. J. M., Van Der Klein D. Rational anti-epileptic drug therapy, Elsevier/North-Holland, 1978, 36—48.
5. Hung J., Hackett P. L., Gordon S. P. E., Ilett K. F. Clin. Pharm. and Therap., 4, 466—470, 1988.
6. Montamat S. C., Abernethy D. R., Mitchell J. K. J. of Chromatogr., 415, 203—207, 1987.
7. Smith M. S., Verghese C. P., Shand D. G., Pritchett E. I. C. Am. J. Cardiol., 51, 1339—1374, 1983.
8. Vanhoutte P. M., Paoletti P., Gavoni S. Calcium antagonists, pharmacology and clinical research New York Academy of Sciences, 1988, 565—583.

დილზემის ფარმაკოკინეტიკური მახასიათებლის მნიშვნელობა სტენოკარდიის მკურნალობის ოპტიმიზაციისათვის

ე. ყიფშიძე, ა. მკაფაძე, მ. რუხაძე

ექსპერიმენტული და კლინიკური თერაპიის სამეცნიერო-კვლევითი ინსტიტუტი, თბილისი თბილისის ივ. ჯავახიშვილის სახელობის სახელმწიფო უნივერსიტეტი

რეზიუმე

ვენაში შესავანი დილზემის ფარმაკოკინეტიკა შევისწავლეთ ამ პრეპარატით არასტაბილური სტენოკარდიის კურსული მკურნალობის ოპტიმალუ-

რი სქემის შემუშავების მიზნით. დილზემის კონცენტრაციას სისხლში ვსაზღვრავდით მაღალეფექტური თხევადი ქრომატოგრაფიის მეთოდით. მიღებული მონაცემე-



ბის თანახმად, ამ პრეპარატით მკურნალობის ეფექტურობა დამოკიდებულია სისხლში მისი კონცენტრაციის დონესა და კონცენტრაციული მერყეობის ამპლიტუდაზე. სტენოკარდიულ შეტევათა კონტროლი შესაძლებელი გახდა დილზემის 12-საათიანი ინტერვალებით შეყვანის დროს. ჩვენს

მიერ შერჩეული სქემით 10-დღიანი კურსის ჩატარების შემდეგ აღინიშნებოდა კლინიკური მდგომარეობის სტაბილიზაცია და ელექტროფიზიოლოგიური სურათის გაუმჯობესება, რაც იძლეოდა პერორალური პრეპარატებით ტრადიციულ მკურნალობაზე გადასვლის შესაძლებლობას.

THE IMPORTANCE OF SOME PHARMACOKINETIC INDICES IN OPTIMIZATION OF ANGINA PECTORIS TREATMENT WITH DILZEM

N. KIPSHIDZE, M. OKUJAVA, M. RUKHADZE

Institute of Experimental and Clinical Therapy, Tbilisi State University, Georgia

S u m m a r y

In the following investigation pharmacokinetics of (dilzem) was studied in order to elaborate the optimal regimen of treatment of angina pectoris with preparation in question. Dilzem concentration in blood was measured by high-performance liquid chromatography (HPLC). Therapeutic effect of dilzem appeared to depend upon the concentration

level and upon the amplitude of its fluctuation. Stable control of attacks was observed at 12 h intervals between i. v. administrations. 10 days of i. v. dilzem with such intervals appeared sufficient for stabilization of clinical and electrophysiological data in order to pass to the treatment with traditional oral preparations.

УДК 619

МИКРОБИОЛОГИЯ

БИОЛОГИЧЕСКИЕ СВОЙСТВА НЕКОТОРЫХ ШТАММОВ *Cl. PERFRINGENS* И *Cl. SEPTICUM*

Дж. В. Начкебия, Т. Г. Габисония, Т. Г. Чанишвили

Грузинский зооветеринарный институт, Тбилиси
НПО «Бактериофаг» им. Г. Г. Элиава, Тбилиси

Поступила в редакцию 15.04.91.

Показано, что вирулентность в штаммах клостридиев обуславливается плазмидой, имеющей молекулярную массу 70,0 мД, которая распространена в *Cl. perfringens* и *Cl. septicum*. Она обеспечивает способность клостридиев к пенетрации эпителиальных клеток, что способствует высокой вирулентности штаммов при внутрибрюшинном заражении мышей.

В последние годы установлено, что инвазивные свойства некоторых видов клостридиев, в частности *Cl. perfringens* и *Cl. septicum*, детерминируются плазмидами вирулентности [3, 4]. Была обнаружена плаزمида, общая для вирулентных штаммов с молекулярной массой 70,0 мД. Освобождение штаммов от этой плазмиды приводит к снижению вирулентности при энтеральном заражении мышей и потере адгезивной и инвазивной способ-

ностей. Осталось невыясненным, изменяется ли вирулентность *Cl. perfringens*, утративших указанную плазмиду, при общепринятом методе внутрибрюшинного заражения мышей с учетом скорости размножения штаммов *in vivo* и *in vitro*.

Цель работы — получение бесплазмидных производных штаммов *Cl. perfringens* и *Cl. septicum*, изучение их вирулентности на мышах клеточной линии Hela.

МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ

Использовали штаммы *Cl. perfringens* A28, *Cl. perfringens* A49, *Cl. septicum* A2, *Cl. septicum* A59 (характеристика и происхождение которых описаны ранее [2]) и *Escherichia coli* K12 C 600/F'lact: Tn10. Все штаммы клостридиев обладали высокой вирулентностью для белых мышей. Так, при внутрибрюшинном заражении $< D_{50}$ для штаммов *Cl. perfringens* A28 составляла $0,6 \cdot 10^1$ бактерий, A49— $9,04 \cdot 10^1$ бактерий, для штаммов *Cl. septicum* A2— $0,87 \cdot 10^1$ бактерий, A59— $1,1 \cdot 10^1$ бактерий. При энтеральном заражении $< D_{50}$ для *Cl. perfringens* A28 составляла $5,2 \cdot 10^1$ бактерий, A49— $9,6 \cdot 10^1$

бактерий; для *Cl. septicum* A2— $7,9 \cdot 10^5$ бактерий, A59— $9,6 \cdot 10^5$ бактерий.

Среды для культивирования бактерий описаны нами ранее [2]. Выделение небольших количеств плазмидной ДНК из штаммов клостридиев осуществляли по Т. Маниатису и соавт. [1].

Получение бесплазмидных вариантов штаммов клостридиев осуществляли по следующей схеме: транспозон Tn 10 вносили в бактериальные клетки штаммов клостридиев при конъюгации с использованием плазмиды F'lact:Tn 10 с последующей селекцией Tc-клонов. После обработки этих клонов, устойчивых к тетра-

циклину, бромистым этиднем путем селекции клонов, чувствительных к тетрациклину, производили поиск вариантов кластридиев, утративших плазмиду. Отобранные производные кластридиев проверяли на наличие плазмидной ДНК — путем ее выделения и электрофорезного разделения.

Вирулентные свойства штаммов кластридиев изучали с помощью внутривентрального заражения белых мышей. Степень вирулентности культур кластридиев оценивали путем вычисления $< D_{50}$ по Л. Риду и Х. Мунчу [5].

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

Нами установлено, что все изученные штаммы *Cl. perfringens* и *Cl. septicum*, выделенные от людей, характеризуются обязательным наличием плазмиды с молекулярной массой около 70,0 мД. В этих экспериментах молекулярную массу плазмид определяли по скорости миграции моле-

кул ДНК в геле (по сравнению с ДНК плазмид с известными молекулярными массами).

В дальнейшем для изучения значения этих плазмид в проявлении кластридиями патогенных свойств мы провели опыты по получению бесплазмидных вариантов вирулентных штаммов *Cl. perfringens* и *Cl. septicum*. Успешными были эксперименты с применением плазмид F'lact^s: Tп10. Был выделен ряд клонов из различных штаммов кластридиев, которые по результатам опытов элиминации утратили плазмиду. После выделения ДНК и электрофореза мы установили, что изучаемую плазмиду утратили следующие производные: *Cl. perfringens* А 28—7, 9, 17, 35; А 49—9, 15, 43; *Cl. septicum* А 2—2, 5, 6; А 59—12, 14 (рис. 1).

При изучении вирулентности бесплазмидных вариантов на модели внутривентрального заражения мышей установлено, что $< D_{50}$ исследуемых штаммов выше у *Cl. perfringens* на 1,5—3 порядка, у *Cl. septicum* на 2,5—3 порядка, чем у исходных культур.

Таким образом, нами показано, что бесплазмидные штаммы *Cl. perfringens* и *Cl. septicum* характеризуются снижением вирулентности на модели внутривентрального заражения мышей. Можно предположить, что плазмиды *Cl. perfringens* с молекулярной массой около 70,0 мД несут гены, определяющие вирулентность штаммов при внутривентральном заражении мышей.

Таблица 1

Вирулентность *Cl. perfringens* и *Cl. septicum* при внутривентральном заражении мышей

Штамм	Наличие изучаемой плазмиды	Вирулентность штаммов для мышей ($< D_{50}$) при внутривентральном заражении
<i>Cl. perfringens</i>		
А 28(исходный)	+	4,88 ± 0,32
А 28—7	—	6,36 ± 0,33
А 28—9	—	7,33 ± 0,37
А 28—17	—	7,37 ± 0,38
А 28—35	—	7,83 ± 0,33
<i>Cl. perfringens</i>		
А 49(исходный)	+	1,83 ± 0,30
А 49—9	—	3,73 ± 0,31
А 49—15	—	3,62 ± 0,28
А 49—43	—	3,59 ± 0,33
<i>Cl. septicum</i>		
А 2(исходный)	+	1,16 ± 0,27
А 2—2	—	3,46 ± 0,33
А 2—5	—	3,43 ± 0,35
А 2—6	—	3,66 ± 0,28
<i>Cl. septicum</i>		
А 59(исходный)	+	1,16 ± 0,28
А 59—12	—	3,27 ± 0,30
А 59—14	—	3,16 ± 0,33

Примечание: + наличие плазмиды в данном штамме
— отсутствие

ЛИТЕРАТУРА

1. Маннатис Т., Фрич Э., Сэмбрук Д. Методы генетической инженерии: Молекулярное клонирование, М., 1984.
2. Начкебия Дж. В., Габисония Т. Г. Изв. АН Грузии, сер. биол., 18, 3, 204—207, 1992.
3. Пехов А. П. Плазмиды бактерий, «Медицина», М., 1986.
4. Abraham L. J., Rood J. J. Plasmidol., 19, 2, 164—168, 1988.
5. Reed L. J., Munch N. Amer. J. Hyg., 27, 493—497, 1938.

CL. PERFRINGENS-ის და CL. SEPTICUM-ის შტამების ზომიერათი პათოლოგიური თვისებები

ჯ. ნახეზია, ტ. გაბისონია, თ. ჰანიშვილი

საქართველოს ზოოვეტერინარიული ინსტიტუტი, თბილისი
გ. ელიავის სახელობის სსგ „ბაქტერიოფაგი“, თბილისი

რ ე ზ ი უ მ ე

ნაჩვენებია, რომ კლოსტრიდიების შტამებში გავრცელებულია 70,0mD მქონე პლასმიდები, რომელნიც განსაზღვრავენ ვიროლენტობას *Cl. perfringens*-ისა და *Cl. septicum*-ის კულტურებში. ისინი უზრუნველყო-

ფენ კლოსტრიდიების პენეტრაციას ეპითელიურ უჯრედებში და განსაზღვრავენ მაღალ ვიროლენტობას თეთრი თავგების მუცლის ღრუს შიგნით დასნებოვნების შემდეგ.

BIOLOGICAL PROPERTIES OF *CL. PERFRINGENS* AND *CL. SEPTICUM* SEVERAL STRAINS

J. NACHKEBIA, T. GABISONIA, T. CHANISHVILI

Georgian Zooveterinary Institute, Tbilisi

G. Eliava Scientific-Industrial Association "Bacteriophage", Tbilisi

S u m m a r y

It has been shown that the virulence of Clostridium strains was conditioned by a plasmid, spread in *Cl. perfringens* and *Cl. septicum* and having the molecular mass of 70,0 mD.

It provided the Clostridium the ability of epithelial cells penetration that ensures high virulence of strains in intraperitoneal infection of mice.

УДК 616.981.25 : 576.851.252 : 547.96

МИКРОБИОЛОГИЯ

ВЫЯВЛЕНИЕ ПРОТЕИНА А И ДРУГИХ ПРИЗНАКОВ ПАТОГЕННОСТИ У КЛИНИЧЕСКИХ ШТАММОВ СТАФИЛОКОККОВ

З. В. Орджоникидзе, В. Е. Курашвили, Л. К. Вепхvadзе,
И. Ш. Дгебуадзе, Т. Г. Чантурия

Тбилисский государственный институт усовершенствования врачей

Поступила в редакцию 22.02.91

Из различного клинического материала было выделено 98 культур золотистого стафилококка.

Ферментация маннита в анаэробных условиях отмечалась у 92% штаммов, коагулировали плазму 74,4%, ДНК-азу и лецитиназу образовывали 80,9—83,6% штаммов соответственно, хлопьеобразующим фактором — белком А — обладали 82,7% штаммов.

Штаммы, обладающие белком А, в 62,12% случаев содержали коагулазу, в 62,5% — ДНК-азу, сбраживали маннит в 72% случаев, образовывали лецитиназу в 77,4% случаев.

Хлопьеобразующий фактор может служить дополнительным тестом потенциальной патогенности стафилококка.

В настоящее время не ослабевает внимание к проблеме стафилококковой инфекции. В понимании патогенности стафилококковых инфекций важное значение имеет выявление различных факторов патогенности. Кроме хорошо известных факторов патогенности ферментативной природы, таких как ДНК-аза, лецитиназа, плазмокоагулаза, фосфатаза, фибринолизин, ферментация маннита и др., в последние годы предложено также определять как один из факторов потенциальной патогенности стафилококков хлопьеобразующий фактор — белок А [1—3].

Хлопьеобразующий фактор — белок А, расположенный в клеточной стенке, синтезируется штаммами золотистого стафилококка, оказывает влияние на фагоцитарную активность, подавляет фагоцитоз, инактивирует систему комплемента и препятствует элиминации стафилококка из инфицированного организма [4, 5, 6].

Исходя из вышесказанного, определенный интерес представляют исследования, направленные на изучение белка А у клинических штаммов стафилококков.

В ряде работ имеются указания на корреляцию между наличием белка А и плазмокоагулирующими свойствами. Что касается сопоставления других признаков потенциальной патогенности с наличием белка А — таких работ в литературе сравнительно мало [8, 9].

В этой связи, целью нашей работы являлось выделение и идентификация стафилококков, изолированных из различного клинического материала, изучение потенциальных факторов патогенности, в том числе белка А, и сопоставление этого признака с плазмокоагулирующим свойством и некоторыми другими факторами патогенности.

Всего было выделено 98 штаммов стафилококков из различного клинического материала: 63 штамма из



гноя, 12 — из зева, 8 — из носа, 6 — из мокроты, 3 — из кала, 3 из — уха, 2 — из желчи, 1 — из крови больного сепсисом.

У всех выделенных штаммов были изучены признаки, характеризующие род *Staphylococcus aureus*. Результаты исследования показали, что все изученные штаммы представляли собой грамположительные кокки — ферментировали глюкозу в анаэробных условиях. Биологические свойства стафилококков: пигментообразование, плазмокоагулазу, лецитиназу, ДНК-азу, сбраживание маннита в

для определения белка А, потому что Fc фрагмент IgG содержит ренеторы как для ревматоидного фактора, так и для белка А стафилококка. Реакцию ставили на предметном стекле. В капле 0,85%-ного раствора NaCl тщательно эмульгировали суточную культуру стафилококка, выращенную на плотной питательной среде. В нее вносили каплю коммерческого диагностикума ревматоидного фактора. Положительная реакция наступала в течение трех минут в виде выраженной хлопчатой агглютинации. На основании изученных признаков

Таблица 1

Биологические свойства стафилококков, выделенных из различного клинического материала

Свойства культур	Число изученных культур	Число штаммов с положительной реакцией	
		абс.	%
Образование золотистого пигмента	98	98	100
Плазмокоагуляция	98	73	74,4
Ферментация маннита в анаэробных условиях	98	90	92
ДНК-аза	21	17	80,9
Лецитиназа	98	82	83,6
Белок А	81	67	82,7

анаэробных условиях исследовали общепринятыми методами. Белок А определяли в реакции пассивной гемагглютинации на стекле с эритроцитарным диагностикумом для определения ревматоидного фактора производства Ленинградского НИИ вакцин и сывороток (Методические рекомендации, Алма-Ата, 1983). Реакция основана на высоком родстве протеина А стафилококка к Fc фрагменту иммуноглобулинов класса G. Вышеуказанный диагностикум может быть применен

все штаммы были отнесены к виду *Staphylococcus aureus*. Золотистый пигмент образовывали все 98 (100%) штаммов. Коагулировали плазму 73 (74,4%). Ферментация маннита в анаэробных условиях отмечалась у 90 штаммов (92%). Из 21 исследованных культур стафилококков у 17 обнаружена ДНК-аза (80,9%). Из 98 культур 82 (83,6%) образовывали лецитиназу. Подавляющее большинство исследованных культур 67 (82,7%)

Таблица 2

Сопоставление некоторых свойств стафилококков с наличием белка А

С х е м а	Количество штаммов	Число совпадений	
		абс.	%
Белок А и коагулаза	73	49	67,12
Белок А и ДНК-аза	16	10	62,5
Белок А и сбраживание маннита	25	18	72,0
Белок А и лецитиназа	31	24	77,4

обладали хлопьеобразующим фактором — белком А (табл. 1).

Наши наблюдения подтвердили данные литературы в отношении того, что большинство штаммов золотистого стафилококка содержат белок А [1, 2, 3, 7].

Представляет определенный интерес выявление связи между обнаружением белка А и другими факторами потенциальной патогенности: плазмокоагулазной активностью, ДНК-азой, лецитиназой и ферментацией маннита. Оказалось (табл. 2), что штаммы, обладающие белком А, в

67,12% случаев имели коагулазу, в 62,5% случаев — ДНК-азу; образывали маннит в 72% случаев; образывали лецитиназу в 77,4% случаев.

Как видно из таблицы, ни один из четырех основных признаков не дал 100%-ного совпадения с хлопьеобразующим фактором. Но совпадение наличия белка А с другими признаками патогенности в 60,5—77,4% случаев указывает, что хлопьеобразующий фактор может служить дополнительным тестом для определения вирулентности стафилококков.

ЛИТЕРАТУРА

1. Азаренок К. С., Данюшенкова Н. М., Бренштейн Т. Ф., Кардович Г. А., Шур И. И., Железняк Н. В. Лаб. дело, 2, 49—50, 1990.
2. Акатов А. К., Зуева В. С. Стафилококки. М., 1983.
3. Бобровник С. А. ЖМЭИ, 8, 48—52, 1986.
4. Бухвальд З., Перепечкина Н. П., Салов В. Ф., Мац А. Н. ЖМЭИ, 5, 78—83, 1985.
5. Вершигора А. Е., Бранкевич Л. Г., Василевская И. А., Лысенко Л. Н., Михновская Н. Д., Пастер Е. У., Шевцова И. И. Общая микробиология, «Высшая школа», Киев, 1988.
6. Савицкая К. И., Солодилова С. Е., Синицина Г. Г., Саксеева Е. Л., Шекина С. Ф. ЖМЭИ, 7, 112—113, 1980.
7. Смирнов В. В., Вершигора А. Е. Стафилококки, «Наукова думка», Киев, 1988.
8. Черневская О. М., Заварухина М. А., Ермолина Г. Б. ЖМЭИ, 7, 29—32, 1985.
9. Ciborowski P., Tyski S. Hygienic Med. Microbiol., 35, 19—20, 1983.

სტაფილოკოკის კლინიკურ შტამებში ცილა А-სა და სხვა პათოგენური თვისებების განსაზღვრა

ზ. ორჯონიძე, ვ. აურაშვილი, ლ. ვიხვაძე, ი. დგებუაძე, თ. ხანტურია

საქართველოს ჯანმრთელობის დაცვის სამინისტროს ექიმთა დახელოვნების თბილისის სახელმწიფო ინსტიტუტი

რ ზ ი მ ე

სხვადასხვა კლინიკური მასალიდან გამოყოფილი იქნა 98 ოქროსფერი სტაფილოკოკის კულტურა. მანიტის ფერმენტაცია ანაერობულ პირობებში აღენიშნებოდა შტამების 92%-ს, პლაზმას აღედებდა 74,4%, დნმ-აზას და ლეციტინაზას წარმოქმნიდნენ შტამების 80,9% — 83,6% შესაბამისად, ფიქების წარმომშობი ფაქტორი — ცილა А აღენიშნებოდა შტამების 82,7%-ს,

შტამები, რომლებსაც ჰქონდათ ცილა А 67,12% შემთხვევაში შეიცავდნენ კოაგულაზას, 62,7% — დნმ-აზას, 77,4% — ლეციტინაზას, მანიტს აფერმენტირებდნენ 72% შემთხვევაში.

ცილა А-ს შემცველობა შეიძლება შეფასდეს ოქროსფერი სტაფილოკოკის პოტენციური პათოგენობის ტესტად.

THE DETERMINATION OF PROTEIN-A AND OTHER PATHOGEN
PROPERTIES IN THE CLINICAL SPECIES OF
STAPHYLOCOCCUS



Z. ORDZHONIKDZE, V. KURASHVIL, L. VEPKHVADZE,
I. DGEBUADZE, T. CHANTURIA

State Institute of Medical Training, Tbilisi

S u m m a r y

98 cultures of *S. aureus* were isolated from the different clinical materials.

92% of species fermented manitol in anaerobic conditions; 74,4% coagulated plasma; 80,9% producted DNA-aza and 83,6% lecitinaza. Protein-A "Clamping

factor" was discovered in 82,7% of species.

The discovery of protein-A can be estimated as a test for determination of the potential pathogenicity of *S. aureus*.

შპა 616-006 : 612.017.1

იმუნოლოგია

მაკროფაგების მოქმედების თავისებურებანი
აპთემისებრიანი სიმსივნის განვითარების პროცესში

დ. ფირცხალაიშვილი, მ. ღარაბველიძე, ნ. ჯაჩიანი

საქართველოს ჯანდაცვის და სოციალურ მედიცინის სამინისტროს ონკოლოგიის
სამეცნიერო ცენტრი, თბილისი

შემოსული რედაქციაში 29.04.91

გამოთქმულია მოსაზრება, რომ სიმსივნის საწინააღმდეგო რეზისტენტობის ერთ-ერთი უმთავრესი ელემენტი — არაფიქსირებული მაკროფაგები სიმსივნის განვითარების პროცესში იჩენენ როგორც სიმსივნის საწინააღმდეგო, ისე სიმსივნის დამცველ მოქმედებას. კერძოდ, არაანტიგენური გამდიდრებელი გამოყენებით გამოვლენილია პირობები, როდესაც მაკროფაგები ხელს უწყობენ სიმსივნური კერის ფორმირებას. ამავე დროს დადგენილია, რომ მაკროფაგები სეკრეტირებენ აქტიურ ნივთიერებებს, რომლებიც აძლევენ სიმსივნის საწინააღმდეგო ბუნებრივი რეზისტენტობის მეორე რგოლის მოქმედებას, სახელდობრ, ნეიტროფილების ფაგოციტურ აქტიობას.

მიღებული შედეგები მიუთითებენ მაკროფაგების სიმსივნის საწინააღმდეგო და სიმსივნის დამცველი რეაქციების თანაფარდობის შესწავლის აუცილებლობაზე იმუნომოდულატორების გამოყენებისას სიმსივნის ზრდის შესაძლებელი სტიმულირების თავიდან ასაცილებლად.

სიმსივნის აღმოცენება ერთეული ტრანსფორმირებული უჯრედიდან, მისი შემდგომი ჩამოყალიბება და განვითარება ძირითადად დამოკიდებულია ორგანიზმის დამცველი სისტემების ფუნქციურ მდგომარეობაზე.

დამტკიცებულია, რომ სიმსივნური უჯრედების აღრეული, იმუნოლოგიურად არასპეციფიკური გამოცნობა და მათი განადგურება ბუნებრივი რეზისტენტობის ფუნქციის [3, 4, 11—13, 15, 16], რომლის აქტიობაც ბუნებრივი კილერების სხვადასხვა პოპულაციებით, ბუნებრივი ანტისხეულებით, მაკროფაგებითა და გრანულოციტებით განისაზღვრება.

ბოლო წლებში სიმსივნის საწინააღმდეგო დაცვაში სულ უფრო დიდ მნიშვნელობას იძენენ მაკროფაგები და მისი წინამორბედები, რომლებიც მონონუკლეარული ფაგოციტების ერთიან სისტემაში არიან გაერთიანებულნი [2, 8, 9]. ისინი

მონაწილეობენ სიმსივნის საწინააღმდეგო იმუნიტეტის სპეციფიკურ და არასპეციფიკურ რეაქციებში, ამასთან გამოირჩევიან როგორც უჯრედული, ისე მოლეკულური ეფექტორული მექანიზმების მრავალფეროვნებით. ამავე დროს მაკროფაგები ასინთეზებენ და გამოყოფენ გარემომცველ არეში მრავალ ისეთ ნივთიერებას, რომლებიც მნიშვნელოვან როლს ასრულებენ ჰომეოსტაზის შენარჩუნებაში.

დამტკიცებულია, რომ მაკროფაგებთან ერთად ორგანიზმის სიმსივნის საწინააღმდეგო მდგრადობაში გარკვეულ როლს ნეიტროფილური გრანულოციტები თამაშობენ. წარმოადგენენ რა პათოგენურ გამდიდრებელზე ორგანიზმის აღრეული არასპეციფიკური რეაქციის ძირითად ეფექტორებს, ისინი კილერების ფუნქციებს ასრულებენ და ავთვისებიანი უჯრედების კლონების წარმოშობასა და განვითარებას ზედამხედველობენ [10, 14].



ჩვენს მიერ აღრე ჩატარებულ ცდებში შექმნილი იყო ცხოველების არაანტიგენური გამლიზიანებლით დამუშავების შედეგად სიმსივნის ზრდის სტიმულირების ფენომენი: კერძოდ, სიმსივნური უჯრედების ქვეზღვრული რაოდენობის კანქვეშა ტრანსპლანტაციის დროს სიმსივნე გაუჩნდა იმ ზაზუნების 53—72%-ს, რომლებსაც წინასწარ გაუკეთდათ სახაქებლის 3%-იანი სუსპენზიის ინტრაპერიტონული ინექცია. წარმოიშვა აზრი, რომ სახაქებლით დამუშავებულ ცხოველებში Ad/12 სარკომის უჯრედების მცირე დოზების (10², 2 · 10²) ტრანსპლანტაციის

დროს სიმსივნის განვითარება დაკავშირებულია მოძრავი მაკროფაგების გაღმავლებასთან სიმსივნური უჯრედების ლოკალიზაციის რაიონიდან მუცლის ღრუში.

წინამდებარე შრომის მიზანი იყო აღნიშნული მოსაზრების სამართლიანობის შემოწმება ცდის სხვადასხვა პირობებში, ამ ფენომენში მაკროფაგების როლის განსაზღვრა და სიმსივნის ზრდის პროცესში მაკროფაგების მიერ სეკრეტირებული ნივთიერებების გავლენის შესწავლა ბუნებრივი რეზისტენტობის სხვა რგოლზე, კერძოდ, ნეიტროფილების ფაგოციტურ აქტიობაზე.

მასალა და მეთოდიკა

ცდები ჩატარდა არახაზოვან სირიულ ზაზუნებზე და თეთრ თავგებზე. ზაზუნებს გადაენერგათ მაიმუნის ვირუსით ინდუცირებული SV-40 სარკომის უჯრედები, თავგებს კი ერლიხის ასციტური სიმსივნე.

შრომში გამოყენებულია: ტრანსპლანტაციური ტესტი მურკას-შოდიფკაციით [7], მაკროფაგების გამოყოფისა და კულტივირების მეთოდები [5], ნეიტროფილების ფაგოციტური აქტიობის განსაზღვრა.

არაანტიგენური გალიზიანების მიზნით ვიყენებდით სტერილურ სახაქებლის სუსპენზიის (3%-იანი) ინტრაპერიტონულ ინექციას — 2 მლ რაოდენობით ზაზუნებში და 1 მლ თავგებში.

პერიტონული მაკროფაგების მიერ სეკრეტირებული აქტიური ნივთიერებების მისაღებად ზაზუნის მუცლის ღრუს ვრცხავდით ჰეპარინშემცველი ჰენქსის ხსნარით. მიღებულ სითხეს 37°C ერთი საათის განმავლობაში ინკუბაციის შემდეგ, მიუწებებელ უჯრედებთან ერთად ვღვრიდით. მინაზე მიწებებული უჯრედების ჩამოსახსნელად ვიყენებდით ვერსენის ან 0,25%-იანი ტრიფსინის ხსნარს. უჯრედებს ვითვლიდით გორიავის კამერაში. ამგვარად მიღებული მაკროფაგების სუსპენზია, დაახლოებით 10⁷/მლ ცოცხალი უჯრედით, კულტივირებისათვის თავსდებოდა თერმოსტატში 48 საათით, შემდეგ განმეორებით ვითვლიდით უჯრედების რაოდენობას. 30 წუთით 3000 ბრ/წ ცენტრიფუგირების

შემდეგ ვიღებდით სუპერნატანტს, რომელიც შეიცავდა მაკროფაგების მიერ გამოყოფილ ნივთიერებებს. ნეიტროფილებზე მათი მოქმედების შესასწავლად 0,25 მლ ციტრატულ სისხლს ვუმატებდით სუპერნატანტის იმ რაოდენობას, რომელიც შეესაბამებოდა 200000 უჯრედს (0,1 ან 0,2 მლ) და ვათავსებდით თერმოსტატში 37°C 30 წუთით. შემდეგ ვღვამდით ფაგოციტოზის რეაქციას მკვდარი St. aureus-ის მიკრობების გამოყენებით [6], პრეპარატებს ვღვამდით რომანოვსკის მეთოდით. ყოველ ნაცში ვითვლიდით 100 ნეიტროფილს. ვსაზღვრავდით ფაგოციტოზში მონაწილე ნეიტროფილების რაოდენობას, ე. წ. ფაგოციტურ აქტიობას (ფაა), რაიტის ფაგოციტოზის ინდექსს (ფი) და მაკროფაგების მიერ სეკრეტირებული ნივთიერებებით გამოწვეული ნეიტროფილების ფაგოციტოზის სტიმულაციის კოეფიციენტს

$$K_{ფა} = \frac{ფაა_{სა} - ფაა_{ს}}{ფა_{ს}} \cdot 100$$

სადაც ფაა_{სა} — ფაგოციტოზის საწყისი მაჩვენებელია;

ფაა_ს — ფაგოციტოზის მაჩვენებელი მაკროფაგების კულტურის სუპერნატანტის შემოქმედების შემდეგ

საცდელი ჯგუფები შედგებოდა 6—10 ცხოველისაგან.

ცდების შედეგების შეფასებისათვის

გამოყენებულია შემდეგი მაჩვენებლები:
 1 — სიმსივნის განვითარების ლატენტური პერიოდის ხანგრძლიობა; 2 — სიმსივნის აღმოცენების სიხშირის პროცენტი; 3 — სიმსივნის ზრდის ინტენსიობა.

გამოკვლევის შედეგები და მათი განხილვა

ცდები ჩაატარეთ სიმსივნის ორ მოდელზე — კანქვეშ მზარდი სარკომა SV—40 ზაზუნებში და ერლიხის ასციტური სიმსივნე თავებში. ცხოველების საცდელ ჯგუფებში გადანერგვამდე 24 საათით ადრე ინტრაპერიტონულად შევიყვანეთ სახამებლის სუსპენზია.

მიღებული შედეგების თანახმად არა-ანტიგენური გამლიზიანებლით ინდუცირებული მწვავე ანთება იწვევს ექსპერიმენტული ცხოველების სიმსივნის საწინააღმდეგო რეზისტენტობის დაქვეითებას სიმ-

მიღებული მონაცემები სტატისტიკურად დამუშავებულია სტიუდენტის მეთოდით. მხედველობაში ვიღებდით შედეგებს, რომელთა მნიშვნელობის დონე „*p*“ ნაკლები იყო 0,05-ზე.

ნის მასის ზრდას, აგრეთვე სიმსივნეთა განვითარებას უჯრედების ქვეზღვრული დოზების ტრანსპლანტაციის შედეგად (10^2 — 10^3).

ამ ფენომენში მაკროფაგების როლის გამოსავლენად, უფრო ზუსტად მაკროფაგების მოქმედების გამოსარიცხავად გამოვიყენეთ მეთილენის ლურჯი, რომელიც ტოქსიურია მაკროფაგებისათვის. 4 მგ მეთილენის ლურჯი გახსნილი 0,5 მლ ჰენქსის ხსნარში თავებში ინტრაპერიტონულად შეგვყავდა 1 მლ 3%-იან სახამებლის

ცხრილი 1

მწვავე არაიმუნური ანთების გავლენა სიმსივნური უჯრედების ტრანსპლანტაციის მიმართ ექსპერიმენტული ცხოველების მგრძობელობაზე

სიმსივნის სახეობა	აეთენსებოანი უჯრედების დოზა	ცხოველების ჯგუფი	ლატენტური პერიოდი დღეები	სიმსივნის განვითარების სიხშირე %	სიმსივნის მოცულობა დაკვლის დღეს
ზაზუნის	10^4	კონტროლი ცდა	$21,5 \pm 3,7$ $18,4 \pm 4,4$	96 100	
სარკომა SV—40	10^2	კონტროლი ცდა	$31,2 \pm 5,6$ $25,7 \pm 4,3$	36 82	
	10^2	კონტროლი ცდა	$35,6 \pm 4,8$	0 56	
ერლიხის	10^6	კონტროლი ცდა		60 87	$8,0 \pm 2,2$ $10,8 \pm 2,0$
ასციტური	10^4	კონტროლი ცდა		0 75	0 $5,8 \pm 1,8$
სიმსივნე თავებში	10^6	ცდა მეთილენის ლურჯით		73	
	10^4			60	

სიენური კერისა და ანთების ლოკალიზაციისაგან დამოუკიდებლად. როგორც გამლიზიანებლისა და სიმსივნური უჯრედების ერთ ადგილზე (i/p სახამებლის სუსპენზია და ერლიხის ასციტური სიმსივნე), ასევე სხვადასხვა ადგილებში (გამლიზიანებელი i/p, სიმსივნე — კანქვეშ) შეყვანის დროს ადგილი ჰქონდა წარმოქმნილ სიმსივნეთა პროცენტის მატებას, სიმსი-

სუსპენზიასთან ერთად და 24 საათის შემდეგ ვახდენდით ერლიხის ასციტური სიმსივნის ტრანსპლანტირებას 10^6 და 10^4 დოზით.

მიღებული შედეგები მიუთითებენ, რომ სახამებლის სუსპენზიით ცხოველების დამუშავებისას მაკროფაგების მოქმედების გამორიცხვა მნიშვნელოვნად თრგუნავს სტიმულირების ფენომენს, რაც ადა-



სტრუქტურებს სტიმულირებული მაკროფაგების პროსიმიციურ როლს ამ ფენომენში (ცხრ. 1).

ამრიგად, მაკროფაგები, წარმოადგენენ რა სიმსივნისაგან ორგანიზმის დაცვის ერთ-ერთ ძირითად უჯრედებს, ამავე დროს, გარკვეულ პირობებში ხელს უწყობენ სიმსივნური კერის ფორმირებას.

ცდების შემდგომი სერია მიექძენა მაკროფაგების მიერ სეკრეტირებული ნივთიერებების გავლენის შესწავლას პერიფერიული სისხლის ნეიტროფილების ფუნქციურ აქტიობაზე, რომელსაც ბოლო დროს მნიშვნელოვან როლს ანიჭებენ როგორც სიმსივნური პროცესების აღმოცენებაში, ასევე ორგანიზმის სიმსივნის სა-

ტება, ისიც მხოლოდ გააქტივებული სტიმულირებული პერიტონული მაკროფაგების გამოყენებისას. რეზიდენტული მაკროფაგების სუპერნატანტების სიმსივნისაგან ზაზუნების სისხლის ნეიტროფილებზე ზემოქმედებისას ფაგოციტური აქტიობის მაჩვენებლების უმნიშვნელო ცვლილებები აღინიშნებოდა, სტიმულირებული მაკროფაგების სუპერნატანტების ზემოქმედებით კი სიმსივნის ზრდის პერიოდში ფაგოციტური აქტიობა საგრძნობლად გაიზარდა 72%-დან 90%-მდე, ასევე ფაგოციტურ ინდექსიც 3,2-დან 5,5-მდე, მაგრამ ნეიტროფილების მომწოდებელი უნარი არ გაძლიერდა.

განსაკუთრებით აღსანიშნავია სიმსივნ-

ცხრილი 2

გაქტივებული მაკროფაგების მეტაბოლიზმის პროლუქტების გავლენა სიმსივნისაგან ზაზუნების ნეიტროფილების ფაგოციტოზზე

სისხლის აღების დრო	ფაგოციტოზის მაჩვენებლები	ფაგოციტოზის საწყისი მაჩვენებელი	მაკროფაგების სუპერნატანტებთან ინკუბირებული ნეიტროფილების ფაგოციტოზი		
			სიმსივნის ტრანსპლანტაციის შემდეგ მაკროფაგების გამოყოფის დროს		
			მე-7	მე-14	21-ე
ლატენტური პერიოდის დასასრული	ნ ფ ა K სტ %	78,0 ± 1,4	90,0 ± 1,2 15 p < 0,01	96,0 ± 1,0 23 p < 0,01	88,0 ± 2,6 13 p < 0,05
	ფ ი K სტ %	4,5 ± 0,4	6,7 ± 0,5 48 p < 0,01	11,3 ± 0,9 151 p < 0,01	6,5 ± 0,3 44 p < 0,01
პროგრესული ზრდის პერიოდი	ნ ფ ა K სტ %	72,0 ± 0,8	89,0 ± 2,1 24 p < 0,01	93,0 ± 0,1 29 p < 0,01	87,0 ± 1,4 21 p < 0,01
	ფ ი K სტ %	3,3 ± 0,2	5,6 ± 0,5 69 p < 0,01	6,2 ± 0,2 87 p < 0,001	6,4 ± 0,6 93 p < 0,01

წინააღმდეგო შემდგომ რეაქციებში.

ცდებში გამოყენებულია რეზიდენტული, სახამბლის სუსპენზიით სტიმულირებული და სიმსივნური ანტიგენით გააქტივებული პერიტონული მაკროფაგები

ინტაქტური ზაზუნების სისხლის ნეიტროფილების საწყისი ფაგოციტური აქტიობა მაღალია — 92,2 ± 0,8% და მასზე მაკროფაგების სუპერნატანტების ზემოქმედება მხოლოდ ნეიტროფილების მომწოდებელი უნარის გაძლიერებით გამოიხა-

ნაინ ზაზუნების ნეიტროფილების ფაგოციტურ აქტიობაზე გააქტივებული მაკროფაგების სუპერნატანტების მოქმედება. ამ უკანასკნელთ ვიღებდით SV-40 საჩკომის უჯრედების ტრანსპლანტაციიდან მე-7, მე-14 და 21-ე დღეზე. ცდებში ვიკვლიედით სიმსივნის ლატენტურ პერიოდსა და პროგრესული ზრდის პერიოდში მყოფი ზაზუნების სისხლის ნეიტროფილების ფაგოციტურ აქტიობას, თითოეული ზაზუნის სისხლით ოთხი სინჯი იდგმებოდა: ერთი საკონტროლო — ფაგოციტოზის სა-

წყისი მაჩვენებლების დასადგენად და სამი საცდელი ფაგოციტოზის რეაქცია. ზემოთ აღნიშნულ პერიოდებში გამოყოფილი და კულტივირებული მაკროფაგების სუპერნატანტებთან პრეინკუბაციის შემდეგ მიღებული შედეგები, რომლებიც წარმოდგენილია მეორე ცხრილში გვიჩვენებენ, რომ SV-40 საკომის ზრდის სხვადასხვა პერიოდში გამოყოფილი მაკროფაგების კულტურების სუპერნატანტები სხვადასხვა სიძლიერით იწვევდნენ ზაზუნების პერიფერიული სისხლის ნეიტროფილების ფაგოციტოზის სტიმულირებას *in vitro*.

განსაკუთრებული აქტიობით გამოირჩეოდნენ ლატენტური პერიოდის დასასრულს გამოყოფილი მაკროფაგები და როგორც ჩანს სისხლის ნეიტროფილებიც ამ დროისათვის უფრო მგრძობიარენი იყვნენ მაკროფაგების მიერ გამოყოფილი ნივთიერებებისადმი. მასტიმულირებელი ეფექტი გამოიხატებოდა არა მარტო ფაგოციტოზში მონაწილე ნეიტროფილების რიცხვის გაზრდით, არამედ ერთი ნეიტროფილის მიერ შთანქმული მიკრობების რაოდენობისა და მათი მონელების უნარის გაზრდითაც.

აღწერილ მასტიმულირებელ ეფექტს კარგად ასახავს მეორე ცხრილში მოყვანილი სტიმულაციის კოეფიციენტი, რომელიც განსაკუთრებით მაღალია ფაგოციტური ინდექსისათვის ლატენტური პერიოდის დასასრულს.

სიმსივნის პროგრესული ზრდის პერიოდშიც სამივე ვადაში გამოყოფილი მაკროფაგების სუპერნატანტები იძლეოდნენ ნეიტროფილების ფაგოციტოზის საკმაოდ ინტენსიურ სტიმულირებას, მაგრამ

აქ ხაზგასასმელია ის ფაქტი, რომ მხოლოდ ფაგოციტური ინდექსის ფონზე არასდროს დაქვეითებული იყო ნეიტროფილების მომწივებელი უნარი, ე. ი. არ იყო მიღწეული ფაგოციტოზის საბოლოო ეფექტი.

ამრიგად, მაკროფაგების მეტაბოლიზმის პროდუქტები მასტიმულირებელ ზეგავლენას ახდენენ სიმსივნისა და ცხოველების ნეიტროფილების ფუნქციურ აქტიობაზე. ამით მაკროფაგები იჩენენ სიმსივნის საწინააღმდეგო მოქმედებას, მაგრამ როგორც ზემოთ აღნიშნულიდან ჩანს სიმსივნის ზრდის სხვადასხვა ეტაპზე ეს ზეგავლენა სხვადასხვა ძალისაა.

როგორც ჩატარებული გამოკვლევებიდან ჩანს სიმსივნის აღმოცენებისა და ზრდის პერიოდში ბუნებრივი რეზისტენტობის მნიშვნელოვანი ელემენტები — არაფიქსირებული მაკროფაგები გარკვეულ პირობებში სიმსივნის საწინააღმდეგო მოქმედების ნაცვლად სიმსივნის დამცველის როლში გამოდიან.

ამავე დროს, უნდა აღინიშნოს, რომ არაფიქსირებულ მაკროფაგებსა და ორგანიზმის იმუნოლოგიური რეაქტიულობის სხვა კომპონენტებს შორის დამოკიდებულებანი მეტად რთულია და სიმსივნის საწინააღმდეგო რეზისტენტობაზე მათი ზემოქმედების ეფექტი მრავალ ფაქტორზეა დამოკიდებული. ზემოთ მოყვანილ გამოკვლევებში ამ საკითხის მხოლოდ ერთი მომენტია შესწავლილი. მაკროფაგების სხვადასხვაგვარი მოქმედების მექანიზმების გარკვევა კი აუცილებელია სიმსივნური პროცესის დროს ორგანიზმის დამცველი რეაქციების სხვადასხვა რგოლზე მიზანდასახული ზემოქმედებისათვის.

ЛИТЕРАТУРА

1. Вардосანიძე Э. Ш., Пирцхალაიшვილი Д. С., Дарахвелидзе М. А., Киквадзе Ц. Г. Бюлл. эксп. биол. и мед., 4, 460—462, 1987.
2. Вядро М. М. Вопр. онкологии, 6, 80—89, 1981.
3. Дейчман Г. И. В кн.: Опухолевый рост как проблема биологии развития, II, 1979, 208—231.
4. Дейчман Г. И. В кн.: Итоги науки и техники. Иммунология опухолей, 13, 1984, 46—97.
5. Дёрфлинг П. В кн.: Иммунологические методы, «Медицина», М., 1987, 366—373.
6. Кост Е. А., Стенко М. И. В кн.: Справочник по клиническим и лаб. методам (под ред. Е. А. Кост), М., 1968, 68—79.
7. Мурка Л. П. Бюлл. эксп. биол. и мед., 2, 11—14, 1965.
8. Суслов А. Г. В кн.: Итоги науки и техники, 13, 1984, 142—210.
9. Fidler I. J. Israel J. Med. Sci., 14 177—191, 1978.

10. Gerard Th., Cohen D. I. Kaplan A. M. J. Nat. Cancer Inst., 66, 3, 483.

11. Herberman R. B. J. Invest. Dermatol., 83, 1, Suppl., 137—140, 1984.

12. Herberman R. B., Holden H. T. Adv. Cancer Res., 27, 305—377, 1978.

13. Herberman R. B., Nunn M. E., Lavrin D. Inst. J. Cancer., 16, 2, 216—229, 1975.

14. Kores S. The role of granulocytes in host defence against tumours., N.—Y., 1980, 1301—1307.

15. Nunn M., Herberman R. J. Nat Cancer, Inst., 62, 4, 765—771, 1979.

16. Otter N. D. Cancer Immunol. Immunother., 21, 2, 85—92, 1986.

НЕКОТОРЫЕ АСПЕКТЫ ДЕЙСТВИЯ МАКРОФАГОВ В ПРОЦЕССЕ РОСТА ЗЛОКАЧЕСТВЕННОЙ ОПУХОЛИ

Д. С. Пирцхалаишвили, М. А. Дарахвелидзе Н. Л. Качлишвили

Онкологический научный центр МЗ и СО Республики Грузия, Тбилиси.

Резюме

Высказано предположение, что нефиксированные макрофаги, составляющие одно из основных звеньев противоопухолевой резистентности, в процессе роста трансплантированной опухоли проявляют как противоопухолевое, так и опухолезащитное действие. В частности, при использовании неантигенного раздражителя выявлены условия, когда макрофаги способствуют формированию опухолевого очага. В то же время установлено, что сек-

ретируемые макрофагами активные вещества усиливают действие другого звена естественной резистентности организма — фагоцитарную активность нейтрофилов.

Полученные результаты указывают на необходимость изучения соотношения противоопухолевого и опухолезащитного действий макрофагов с целью устранения возможности стимуляции опухолевого роста при использовании иммуномодуляторов.

SOME ASPECTS OF MACROPHAGES EFFECTS DURING MALIGNANT TUMOUR GROWTH

D. PIRTSKHALAISHVILI, M. DARAKHVELIDZE,
N. KACHLISHVILI

Georgian Cancer Research Centre, Tbilisi

Summary

It is suggested that unfixed macrophages expose antitumoural and tumourdefence action as well during the tumour growth. Actually, with the use of nonantigenic irritant (starch suspension) are revealed such conditions when macrophages promote the forming of tumour seat. At the same time it is established that macrophage-secreted active substan-

ces enhance the effect of other chain of organism natural resistance—neutrophyles phagocytic activity.

Based on these results it's necessary to study macrophages antitumoural and tumourdefence effects relations under using immunomodulators for tumour growth stimulation possible removal.

უკ 557.15

მოლეკულური ბიოლოგია

აქამბაქტერია SULFOLOBUS ACIDOCALDARIUS-ის დნმ-პოლიმერაზა A-ს მიმართ მიღებული ანტისმულაზის დახასიათება

ნ. დათუაშვილი, მ. ნანაზაშვილი, ხ. კვანტალიანი, დ. ფრანგოვილი

საქართველოს მეცნიერებათა აკადემიის მოლეკულური ბიოლოგიისა და ბიოლოგიური ფიზიკის ინსტიტუტი, თბილისი

საქართველოს მეცნიერებათა აკადემიის სამედიცინო ბიოტექნოლოგიის ინსტიტუტი, თბილისი

შემოსულია რედაქციაში 01.02.91.

თერმოაციდოფილური არქებაქტერია *Sulfolobus acidocaldarius*-ის დნმ-პოლიმერაზა A-ს მიმართ მიღებულ იქნა ანტიშრატი. დადგინდა, რომ ანტიშრატი სპეციფიურად აინჰიბირებს დნმ-პოლიმერაზა A-ს მიერ წარმართულ პოლიმერაზაციის რეაქციას, მაგრამ არ თრგუნავს *S. acidocaldarius*-ის დნმ-პოლიმერაზა B-ს აქტიობას. იმუნობლოტინგის მეთოდით გამოვლენდა, რომ A და B დნმ-პოლიმერაზებს არა აქვთ საერთო ანტიგენური დეტერმინანტები: ანტისეულები სპეციფიურად ურთიერთქმედებენ დნმ-პოლიმერაზა A-თან და არ უკავშირდებიან დნმ-პოლიმერაზა B-ს. მიღებული შედეგები სახს უსვამს იმ ვარაუდებს, რომ *S. acidocaldarius*-ის A და B დნმ-პოლიმერაზები მიეკუთვნებიან ფერმენტების სხვადასხვა კლასებს.

არქებაქტერიები ქმნიან ცოცხალი სამყაროს მესამე სამეფოს, რომელიც განსხვავდება ჭეშმარიტი ბაქტერიების (ეუბაქტერიების) და ეუკარიოტების სამეფოებისგან [1, 12]. ვარაუდობენ, რომ ამ მიკროორგანიზმების მოლეკულური ორგანიზაციის გარკვევა ნათელს მოჰფენს ადრეული ევოლუციის საკითხებს [3]. ბოლო დრომდე არქებაქტერიების მოლეკულური ბიოლოგიის კვლევაში აქცენტი ტრანსკრიპციისა და ტრანსლაციის აპარატებზე კეთდებოდა. ექსტრემალური თერმოფილური არქებაქტერიების *Thermoplasma acidophilum*-ისა და *Sulfolobus acidocaldarius*-ის დნმ-პოლიმერაზების გამოყოფამ და დახასიათებამ [2—6, 8—11] დასაბამი მისცა არქებაქტერიების რეპლიკაციური აპარატის შესწავლას.

არქებაქტერია *Sulfolobus acidocaldarius*-დან გამოყოფილ იქნა სამი სახის დნმ-პოლიმერაზა: A, B, და C, რომლებიც განსხვავდებიან ერთმანეთისაგან ფიზიკურ-ქიმიური და კატალიზური თვისებებით [2]. დნმ-პოლიმერაზა A 105 000 დალტონი მოლეკულური მასის მქონე პოლიპეპტიდია; დნმ-პოლიმერაზა B შედგება 40 000 დალტონი მოლეკულური მასის სუბერთეულებისაგან; დნმ-პოლიმერაზა C აღმოჩენილია მულტიპოლიპეპტიდის სახით, რომლის მოლეკულური მასა 500 000 დალტონის ფარგლებშია. ამ ფერმენტებიდან თითოეულს აღმოაჩნდა ფორმალური ჰომოლოგი არქებაქტერიების ფართო სპექტრში [3]. სავარაუდო ჰომოლოგებს შორის ნათესაური ურთიერთობის დასადგენად, ისევე როგორც ეუბაქტერიული და ეუკარიოტული დნმ-პოლიმერაზების

სხვადასხვა კლასებთან არქებაქტერიული დნმ-პოლიმერაზების ევოლუციური კავშირის გასარკვევად, შესაძლოა მეტად სასარგებლო აღმოჩნდეს ფერმენტების იმუნოქიმიური თვისებების შესწავლა.

წინამდებარე ნაშრომი წარმოადგენს

ავლივის მიმოხივები

ანტიშრატის მიღება. ბოცვერების იმუნოზაციისათვის *S. acidocaldarius*-ის დნმ-პოლიმერაზა A-ს ვასუფთავებდით შემდეგი სქემის მიხედვით: ლიზისი — უჯრედული ნამსხვრევების მოშორება ცენტრიფუგირებით — ქრომატოგრაფია DEAE-ცელულოზაზე — ქრომატოგრაფია Bio-Rex 70-ზე — გელ-ფილტრაცია სეფაროზა CL-6B-ზე — ქრომატოგრაფია პეპარინ-ცელულოზაზე [2]. სამუშაოში გამოყენებული, ნაწილობრივად გასუფთავებული ფერმენტის პრეპარატის (ფრაქცია 1) ელექტროფორეზამა მოცემულია

საწყის რგოლს ასეთი სახის გამოკვლევის ციკლში. მასში მოცემულია *S. acidocaldarius*-ის დნმ-პოლიმერაზა A-ს შამართ მიღებული ანტიშრატის დახასიათება.

ფრინდის ადიუვანტს. სუსპენზია შეგვყავდა ცხოველების კანში. იმუნოზაციის ყოველ საფეხურზე ვხმარობდით 70 მკგ ცილას. ბოცვერებს ჩავუტარეთ იმუნოზაცია 4-ჯერ 7 დღის ინტერვალით. ბოლო ინექციიდან 10 დღის შემდეგ სისხლს ვიღებდით ყურის ვენიდან. პირველ იმუნოზაციამდე იმავე კურდღლისგან ვიღებდით საკონტროლო პრეიმუნურ შრატს.

იმუნობლოტიზი. ელექტროფორეზით გაყოფილი 1 ფრაქციის ცილები გელიდან ნიტროცელულოზას ფილტრებზე გადაგვიქონდა ელექტროფორეზულად 0,25 M



ნახ. 1. 1. პოლიაკრილამიდის გელიდან ნიტროცელულოზას ფილტრზე გადატანილი 1 ფრაქცია: A—დნმ-პოლიმერაზა A (6 მკგ), B — დნმ-პოლიმერაზა B; 2. მარკერებად გამოყენებული პეპტიდები შემდეგი მოლ. მასებით: 340 კდალტ., 100 კდალტ., 55 კდალტ.; 36 კდალტ.; *S. acidocaldarius*-ის დნმ-პოლიმერაზა A-ს შამართ მიღებული ანტისხეულებს იმუნობლოტირე 1 ფრაქციის პეპტიდებთან: 3—ანტიშრატის 1:600 განხაფისას; 4—ანტიშრატის 1:200 განხაფისას

ნახ. 1.1-ზე. ისრით ნახაზზე აღნიშნულია დნმ-პოლიმერაზა A-ს შესაბამისი პოლიპეპტიდი. ამ პოლიპეპტიდის შესაბამის უბანს ეჭირდით გელიდან. გელის ზოლს ვაქუცმაცებდით მექანიკურად ფიზიოლოგიურ ხსნარში (0,15 M NaCl) და ჰომოგენატს ვუმატებდით ტოლი რაოდენობის

ფოსფატურ ბუფერში pH 8 [7]. ფილტრებს ვაინკუბირებდით 1 სთ, 37°C, 0,01 M ფოსფატურ ბუფერში pH 7,2, რომელიც შეიცავდა 0,15 M NaCl-ს (ბუფერი FS) და 0,25% ყელატინს. ფილტრებს ვრეცხავდით 0,1% TWIN 20-ის შემცველ FS ბუფერში, ვახდენდით ინკუბაციას

ანტისხეულებთან 12 სთ, 4°C, და ბოლოს ვრცხავდით ზემოთ აღნიშნული წესით. ანტიგენ-ანტისხეულის მიერ წარმოქმნილი კომპლექსის ვიზუალიზებას ვახდენდით 0,25% ელატინის შემცველ FS ბუფერში 1000-ჯერ განზავებული, პეროქსიდაზასთან დაკავშირებული თხის ანტიშრატის გამოყენებით, რომელიც მიღებული აყო ბოცვერის Y-გლობულინების მიმართ (Sigma, აშშ). ინკუბაციის შემდეგ ფილტრებს ვრცხავდით 0,1% TWIN-20-ის შემცველ FS ბუფერით და ვღებავდით 5 წთ-ის განმავლობაში ხსნარში, რომელიც

კვლევის შედეგები და მათი განხილვა

ექსპერიმენტების პირველი სერიის მიზანი იყო გამოგვეკვლია მიღებული ანტისხეულების უნარი მოეხდინათ 1 ფრაქციის დნმ-პოლიმერაზული აქტიობის ინჰიბირება. პოლიმერაზული რეაქციის დაწყებამდე ვახდენდით დნმ-პოლიმერაზული აქტიობის 1 ერთეულის [8] ინკუბაციას ანტისხეულებთან. ანტიშრატის გავლენა დნმ-პოლიმერაზულ აქტიობაზე წარმოდგენილია ნახ. 2-ზე. იმავე ნახაზზე მოცემულია არაიმუნოზებული ბოცვერის შრატის გამოყენებით მიღებული საკონტროლო ცდის შედეგები. როგორც ნახაზიდან ჩანს, 7-ჯერ განზავებული ანტიშრატი აინჰიბირებს პოლიმერაზაციას 90%-ით, და ნარევიში ანტიშრატის რაოდენობის შემდგომი გაზრდა არ მოქმედებს პოლიმერაზულ აქტიობაზე. 1 ფრაქციის დნმ-პოლიმერაზული აქტიობის არასრული ინჰიბირება დნმ-პოლიმერაზა A-ს მიმართ მიღებული ანტისხეულებით შეიძლება აიხსნას აღნიშნულ ფრაქციაში დნმ-პოლიმერაზა B-ს საკმაო რაოდენობის არსებობით (იხ. ნახ. 1.1).

ელექტროფორეზით გაყოფილი და ფილტრებზე გადატანილი 1 ფრაქციის პეპტიდების იმუნოფერმენტული შეღებვის მონაცემებით დამტკიცდა, რომ მიღებული ანტისხეულები სპეციფიურად ურთიერთქმედებენ დნმ-პოლიმერაზა A-თან. 1:600 განზავებისას ანტისხეულები სპეციფიურ კომპლექსს წარმოქმნიან მხოლოდ ერთ პეპტიდთან, რომლის მოლეკულური მასაა 105 კდალტ. (ნახ. 1.3). აღსა-

შეიცავდა: 0,05 M ტრის-HCl-ს pH 7,6/
0,5 მგ/მლ 3-დიაინობენზიდოქსი-
0,003% H₂O₂-ს.

ცილების ელექტროფორეზს ვატარებდით მადენატურიტებელ პირობებში პოლიაკრილამიდის გრადიენტულ გელში [2].

დნმ-პოლიმერაზულ აქტიობას ვსაზღვრავდით მქავაში უხსნად ნივთიერებაში რადიოაქტიურად მონიშნული წინაპრების ჩართვის მიხედვით 60°C-ზე, როგორც აღწერილია ადრე გამოქვეყნებულ ნაშრომში [2].

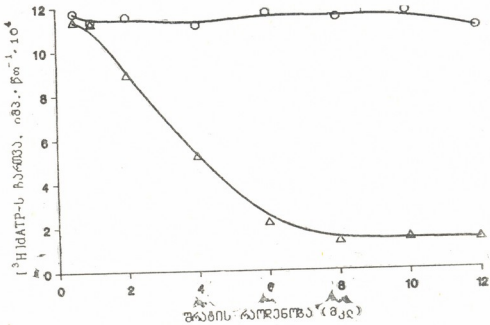
ნიშნავია, რომ შრატის ნაკლები განზავებისას იმუნობლოტინგის მეთოდით გამომქვანდა უფრო დაბალი (69 კდალტ. და 54 კდალტ.) მოლეკულური მასის მქონე ორი პეპტიდის პოზიტიური შედეგაც (ნახ. 1.4). სავარაუდოა, რომ ეს პეპტიდები წარმოადგენს დნმ-პოლიმერაზა A-ს პროტეოლიზური დეგრადაციის პროდუქტებს. ანტისხეულების ტიტრი საწყისი ცილის მიმართ ბევრად მეტია, ვიდრე მისი დეგრადაციის პროდუქტების მიმართ; ეს შეიძლება აიხსნას იმ ფაქტით, რომ იმუნოზაციას ვახდენდით ელექტროფორეტულად ჰომოგენური ცილით, რომლის მოლეკულური მასაა 105 კდალტ.

საზგასმით უნდა აღინიშნოს, რომ 1 ფრაქციაში 40 კდალტ. მოლეკულური მასის მქონე დნმ-პოლიმერაზა B-ს მალაი პროცენტული შემცველობის მიუხედავად, იმ დაბალმოლეკულურ პეპტიდებს შორის, რომლებიც ურთიერთქმედებენ დნმ-პოლიმერაზა A-ს ანტისხეულებთან, დნმ-პოლიმერაზა B არ აღმოჩნდა. ეს შეიძლება ჩაითვალოს იმის დამამტკიცებლად, რომ დაბალმოლეკულური დნმ-პოლიმერაზა B არ წარმოადგენს დნმ-პოლიმერაზა A-ს პროტეოლიზური დეგრადაციის პროდუქტს. ამის შესახებ ვარაუდი ჩვენ გამოვთქვით უფრო ადრე [2], თუმცა ზოგმა ავტორმა არ გაიზიარა ჩვენი თვალსაზრისი და ჩათვალა, რომ დნმ-პოლიმერაზა B არის დნმ-პოლიმერაზა A-ს დეგრადირებული ფორმა [10].



მიღებული ანტისხეულები არ ახდენენ გავლენას *Esherichia coli*-ის დნმ-პოლიმერაზა 1-ის და ვირთხის ლეიძლის დნმ-პოლიმერაზა β -ს აქტიობაზე. საინკუბაციო ნარევიში 5-ჯერ განზავებული ანტიშრატის დამატება არ იწვევდა პოლიმერაზის

კუთრი აქტიობა და სიზუსტე [2] — ხდის მას მნიშვნელოვან საშუალებად გამოყენებითი ამოცანების გადაჭრისას: სენგერის მეთოდით დნმ-ს სიქვენირებისათვის და პოლიმერაზისა და რეაქციის მეთოდით გენომური თანმიმდევრობების ამ-



ნახ. 2. ფრაქცია 1-ის დნმ-პოლიმერაზული აქტიობის დამოკიდებულება სარეაქციო არეში შეტანილი შრატის რაოდენობაზე. შრატის წინასწარი დიალიზი ხდებოდა ბუფერში: 20 mM ტრის-HCl pH 8,0; 20 mM KCl. ანტიგენ - ანტისხეულის პრერეგულირება ტარდებოდა 1 სთ, 37°C, 40 მკგ მოცულობის სარეაქციო არეში, რომელც შეიცავდა: 20 mM ტრის-HCl pH 8,0; 20 mM KCl, 2 mM MgCl₂, 2 მკგ/მკგ ალუმინს. შენდგ სარეაქციო ნარევეს ემატებოდა ვაქტივებული დნმ 10 მკგ და 0,1 mM [³H]dATP, dGTP, dTTP, dCTP. პოლიმერაზის რეაქცია მიმდინარეობდა 30 წთ, 60°C. O — კონტროლი — არაამოხუნი შრატი, Δ — ანტიშრატი

ეფექტურობის შემცირებას და იმუნობლოტინგის მეთოდით ანტისხეულები არ ცნობდნენ მითითებულ ფერმენტებს.

S. acidocaldarius-ის დნმ-პოლიმერაზა A-ს მთელი რიგი მახასიათებლები — მისი მაღალი თერმოსტაბილობა, მაღალი

პლფიკაციისათვის in vitro. ეს განპირობებს ინტერესს *S. acidocaldarius*-ის დნმ-პოლიმერაზა A-ს გენის კლონირების მიმართ. ამ მიზნის მისაღწევად ამჟამად ვიყენებთ მოცემულ ნაშრომში აღწერილ პოლიკლონალურ ანტისხეულებს.

ლიტერატურა

1. ფრანგიშვილი დ. მენიერება და ტემპი, 4, 40—42, 1982.
2. პრანგიშვილი დ. А. Мол. биол., 20, 2, 477—488, 1986.
3. პრანგიშვილი დ. А. Молекулярная биология археобактерий, «Мещнерება», Тбилиси, 1989.
4. პრანგიშვილი დ. А., Чинчаладзе დ. З. Изв. АН ГССР, сер. биол., 13, 1, 57—62, 1987.
5. პრანგიშვილი დ. А., Чинчаладзе დ. З., Челидзе М. Г. Биотехнология, 3, 4, 440—446, 1987.

6. Чинчаладзе Д. З., Прангишвили Д. А., Качабава Л. А., Заалишвили М. М. Мол. биол., 19, 6, 1466—1475, 1985.
7. Bittner M., Kupfer P., Mowis C. F., Anal. Biochem., 102, 2, 459 — 471, 1980.
8. Bukhrashvili I. S., Chinchaladze D. Z., Lavrik O. J., Levina A. S., Nevinsky G. A., Prangishvili D. A. Biochim. Biophys. Acta, 1008, 102—107, 1989.

9. Chinchaladze D. Z., Prangishvili D. A., Scamrov A. V., Bebealashvili R. Sh., Dyatkina N. B., Kraevski A. A. *Biochim. Biophys. Acta*, 1008, 113—115, 1989.
10. Hamal A., Forterre P., Elie C., Eur. J. Biochem., 190, 517—521, 1990.
11. Prangishvili D. A., Zilting W. Abstracts of FEMS symposium. "Evolution of Prokaryote", Munich, 1984.
12. Woese C. R., Magrum L. J., Fox G. E., *J. Mol. Evol.*, 11, 245—252, 1978.

ХАРАКТЕРИСТИКА АНТИТЕЛ, ПОЛУЧЕННЫХ К ДНК-ПОЛИМЕРАЗЕ А АРХЕБАКТЕРИИ *SULFOLOBUS ACIDOCALDARIUS*

Н. Т. Датукишвили, М. Г. Наназашвили, Х. Г. Кванталиани, Д. А. Прангишвили

Институт молекулярной биологии и биологической физики АН Грузии, Тбилиси
Институт медицинской биотехнологии АН Грузии, Тбилиси

Резюме

Получена антисыворотка к ДНК-полимеразе А из термоацидофильной архебактерии *Sulfolobus acidocaldarius*. Установлено, что антисыворотка специфически ингибирует полимеразную активность ДНК-полимеразы А, но не подавляет активность ДНК-полимеразы В *S. acidocaldarius*. Методом иммуноблоттинга выявлено, что ДНК-полимеразы А и В не об-

ладают общими антигенными детерминантами: полученные антитела специфически взаимодействуют с ДНК-полимеразой А и не связываются с ДНК-полимеразой В. Результаты подчеркивают то обстоятельство, что ДНК-полимеразы А и В *S. acidocaldarius* принадлежат разным классам ферментов.

CHARACTERIZATION OF ANTIBODIES OBTAINED AGAINST DNA POLIMERASE A OF ARCHAEBACTERIUM *SULFOLOBUS ACIDOCALDARIUS*

N. DATUKISHVILI, M. NANAZASHVILI, Kh. KVANTALIANI, D. PRANGISHVILI

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

Institute of Medical Biotechnology, Georgian Academy of Sciences, Tbilisi

Summary

The antiserum has been obtained against DNA polymerase A of thermoacidophilic archaeobacterium *Sulfolobus acidocaldarius*. It was established that the antiserum specifically inhibits the DNA polymerase A activity whereas, it does not suppress the activity of DNA polymerase B of *Sulfolobus acidocaldarius*. The immunoblotting method revealed that

DNA polymerases A and B do not possess common antigenic determinants. The antibodies specifically react with DNA polymerase A and do not interact with DNA polymerase B. The results obtained emphasize the fact that DNA polymerases A and B of *S. acidocaldarius* belong to the various classes of enzymes.

УДК 576.312

МОЛЕКУЛЯРНАЯ БИОЛОГИЯ

АКТИВНАЯ ФРАКЦИЯ БЕЛКОВ ЯДЕРНОГО ЭКСТРАКТА ПЕЧЕНИ КРЫСЫ, ДЕМАСКИРУЮЩАЯ ДНК ХРОМАТИНА

К. М. Джандиери, Н. Г. Авалишвили, Н. В. Бочоришвили,
М. Р. Кезели, Г. Д. Туманишвили

Тбилисский государственный университет им. Ив. Джавахидшвили

Поступила в редакцию 07.09.91

Исследовано влияние количественного соотношения тотального белка и РНК из ядерного экстракта печени белых крыс на разрушение ДНК хроматина печени ДНКазой.

Найдено соотношение белка и РНК (1:2), вызывающее максимальную деградацию ДНК хроматина ДНКазой. Для выявления активной фракции белка тотальный белок фракционировали двумя способами: высаливанием сульфатом аммония разного насыщения и ионообменной хроматографией. Активная фракция обнаружена: 1. при высаливании 50—60%-ным сульфатом аммония; 2. в 0,1 N NaCl при ионообменной хроматографии.

Электрофорезом в градиентно акриламидном геле (3—25%) и вышеупомянутых фракциях при денситометрировании обнаружен пик белка, за счет которого и возможна активность комплекса.

В наших ранних работах было установлено, что ядерный экстракт печени крысы ускоряет разрушение ДНК хроматина ДНКазами (в течение часа разрушает 20—30%) [2, 3, 6, 9]. По-видимому, это ускорение деградации ДНК происходит в результате демаскирования участков ДНК, вследствие чего увеличивается ее доступность к ДНКазам. Это предположение подтвердилось в опытах с титрованием хроматина актиномицином Д (АМД), в которых вследствие действия ядерного экстракта было получено увеличение количества АМД, связанного хроматином

[5, 10]. Исходя из этих данных мы предположили наличие в ядерном экстракте фактора, демаскирующего ДНК хроматина и принимающего участие в регуляции его матричной активности. В этих же опытах было установлено, что активность ядерного экстракта обусловлена присутствием в нем комплекса белков и РНК [2, 3, 6, 9].

Целью настоящей работы являлось установление влияния количественного соотношения белка и РНК на активность этого комплекса и выявление активной фракции белка ядерного экстракта.

МАТЕРИАЛ И МЕТОДИКА

Опыты проводились на белых крысах весом 150—200 г, из печени которых получали ядерный экстракт [1, 2], а также хроматин — по методу Дингмана и Спорна [8]. Из ядерного экстракта выделяли РНК — по Георгиеву [1]. РНК хранили в этиловом спирте (70°) при —10°, или лио-

филизировали. Для получения белка из ядерного экстракта протамин сульфатом удаляли РНК [7]. Протамин сульфат (18 мл 1%-ного раствора на 16 000 оптических единиц РНК) добавляли в ядерный экстракт по каплям на магнитной мешалке, оставляли на 20 мин в холодильнике и затем

центрифугировали при 105 000 g в течение 1 ч. С целью удаления NaCl супернатант, содержащий белок, диализировали против 0,01 M фосфатного буфера pH 7, после чего его лиофилизировали.

Белок разделяли на фракции двумя способами: высаливанием сульфатом аммония от 10 до 90% (9 фракций) и разделением ионообменной хроматографией на колонке 1,5—2,5 см (DEAE Тоуреар) от 0 до 0,4 N NaCl (5 фракций). В обоих случаях раствор каждой из белковых фракций диализировали против 0,01 M фосфатного буфера (pH 7) и затем лиофилизировали. Проводили электрофорез отдельных фракций белка в градиентном полиакриламидном геле (3—25%).

Для исследования влияния белка и РНК, выделенных из ядерного экстракта, на скорость разрушения ДНК хроматина ДНКазой, инкубационную смесь составляли из: 0,5 мл раствора хроматина (Хр), содержащего 50 мкг ДНК, лиофилизированных фракций белка (ФБ) или тотального белка (Б) и РНК, растворенных в

0,01 M фосфатном буфере (рН 6,8 — объемы и количество этих веществ указаны в таблицах); 1 мкл ДНКазы (free of R Nase — 2 000 единиц Кунинга) и одной капли 0,1% MgCl₂. Инкубация проводилась в течение 1 ч при температуре 37°. Реакцию прекращали добавлением 2,5 мл холодной 0,5 N хлорной кислоты и центрифугировали при 900 g 10 мин. В надосадочной жидкости определяли кислоторастворимые нуклеотиды по разности поглощения 270—290 нм [4]. О степени разрушения ДНК хроматина судили по повышению кислоторастворимых нуклеотидов по сравнению с контролем (неинкубированная смесь), что выражали в процентах от содержания кислоторастворимых нуклеотидов в чистом хроматине.

Для изучения связывания хроматинном АДМ хроматин (150 мкг ДНК — 1 мл) инкубировали с разным количеством РНК и фракциями белка (по 1 мл). Титрование смеси проводили до и после инкубации (1 ч при 37°).

Каждый вариант опыта проводили не менее 3-х раз.

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

Из таблицы 1 видно, что по отдельности ни нефракционированный тотальный белок, ни РНК, независимо от их количества, не ускоряют деградацию ДНК хроматина ДНК-азами. Скорость разрушения ДНК при со-

отношении РНК и белка, равном 1:1, по 50 и по 100 мкг соответственно, судя по количеству кислоторастворимых нуклеотидов не превышала контрольного уровня [3, 9].

Т а б л и ц а 1

Результаты исследования влияния белка и РНК из ядерного экстракта на скорость разрушения ДНК хроматина ДНКазам

Инкубационная смесь	Увеличение свободных нуклеотидов в %
Хр — 50мкг (0,5мл), ДНКаза — 1мл	
Хр+белок 50мкг (0,5мл) + ДНКаза	0
Хр+белок 100мкг (0,5мл) + ДНКаза	0
Хр+РНК 50мкг (0,5мл) + ДНКаза	00
Хр+РНК 100мкг (0,5мл) + ДНКаза	0
Хр+РНК 50мкг (0,25мл) + белок 50мкг (0,25мл) + ДНКаза	4±1,9
Хр+РНК 100мкг (0,25мл) + белок 100мкг (0,25мл) + ДНКаза	5,6±3,5
Хр+РНК 200мкг (0,25мл) + белок 200мкг (0,25мл) + ДНКаза	0
Хр+РНК 100мкг (0,25мл) + белок 200мкг (0,25мл) + ДНКаза	0
Хр+РНК 100мкг (0,25мл) + белок 50мкг (0,25мл) + ДНКаза	65±11
Хр+РНК 50мкг (0,25мл) + белок 25мкг (0,25мл) + ДНКаза	53±9,7
Хр+РНК 25мкг (0,25мл) + белок 5мкг (0,25мл) + ДНКаза	27±0,2
Хр+РНК 12,5мкг (0,25мл) + белок 6,25мкг (0,25мл) + ДНКаза	27±0,25



Такие же результаты были получены при соотношении РНК — белок 1:2. Разрушение же ДНК хроматина наблюдалось только при соотношении РНК и белка, равном 2:1. Получена также зависимость увеличения количества кислоторастворимых нуклеотидов от абсолютного количества РНК и белка в инкубационной смеси.

При оптическом титровании хроматина в присутствии РНК и белка до инкубации точка насыщения свободных локусов во всех случаях соответствовала 10 мкл. При раздельном воздействии на хроматин и РНК и белка, а также при их соотношении 1:1, насыщение хроматина после инкубации не изменялось (табл. 2). Демаскирование дополнительных локусов, выражающееся в увеличении

Если сравнить эти данные с данными, полученными ранее с ядерным экстрактом [3, 9], то станет очевидным, что они абсолютно идентичны.

Из полученных результатов следует, что способность ядерного экстракта демаскировать локусы ДНК хроматина зависит от соотношения РНК и белка, содержащегося в нем. Удалось подобрать соотношение этих двух компонентов экстракта, дающее оптимальный эффект. Вследствие изменения этого соотношения может происходить потеря экстрактом демаскирующей активности.

После разделения белка, выделенного из экстракта, сульфатом аммония в каждой фракции определяли его количество и вычисляли вклад белка каждой фракции в тотальный

Таблица 2

Связывание актиномина Д хроматином печени при разных количественных соотношениях РНК и белка в инкубационной смеси

Инкубационная смесь (Хр 150мкг—10,5мл)	Молекулы АМД, связанные с 1 000 нуклеотидами	
	до инкубации	после инкубации
Хр+РНК 150мкг(2мл)	4,6	4,6
Хр+РНК 150мкг(1мл)+белок150мкг(1мл)	4,6	4,6
Хр+белок 150мкг(2мл)	4,6	4,6
Хр+РНК 150мкг(1мл)+белок 75мкг(1мл)	4,6	32,7
Хр+РНК 50мкг(1мл)+белок 25мкг(1мл)	4,6	32,7

Таблица 3

Влияние на доступность ДНК хроматина к ДНКазам РНК ядерного экстракта и его белковых фракций, высаленных сульфатом аммония

Инкубационная среда Хр 50мкг(0,5мл), РНК 25мкг(0,5мл), ДНКаза 1мкл	Увеличение свободных нуклеотидов в %
Хр+РНК+Б 20% (1—10мкг)+ ДНКаза	18
Хр+РНК+Б 30% (1—10мкг)+ ДНКаза	18
Хр+РНК+Б 40% (1—10мкг)+ ДНКаза	18
Хр+РНК+Б 50% (1мкг)+ ДНКаза	22
Хр+РНК+Б 50% (5мкг)+ ДНКаза	28
Хр+РНК+Б 50% (10мкг)+ ДНКаза	25
Хр+РНК+Б 60% (1мкг)+ ДНКаза	42
Хр+РНК+Б 60% (1мкг)+ ДНКаза	28
Хр+РНК+Б 60% (10мкг)+ ДНКаза	20

количества связанного АМД (70 мкл), соответствовало соотношению в инкубационной среде РНК—белок 2:1 и не зависело от их абсолютного количества.

белок ядерной фракции. Так как в предыдущих опытах нами было установлено эффективное соотношение РНК и белка (2:1), то из каждой фракции, казалось бы, надо было



брать количество белка, соответствующее вкладу данной фракции, что составило от 1 до 6 мкг. Однако, поскольку каждая фракция содержит по несколько подфракций (см. ниже), для большей точности в инкубационную среду вносили от 1 до 10 мкг белка.

В табл. 3 мы не включили данные, полученные при внесении в инкубационную среду белка 10%-ной фракции от 70 до 90%-ного насыщения сульфатом аммония, так как в этих случаях увеличения концентрации свободных нуклеотидов не происходит. Ускорение разрушения ДНК хроматина, в присутствии ДНКазы, наблюдается при добавлении белковых фракций, выделенных сульфатом аммония 20 и 60% насыщения, но наивысшей величины деградации ДНК достигает при добавлении в инкубационную среду 60%-ной фракции. Можно предположить, что в эту фракцию входит максимальное количество именно того белка, который является ответственным за активность ядерного экстракта.

Интересно и то, что большое значение имеет абсолютное количество внесенного в инкубационную среду белка. При применении 20, 30 и 40%-ных фракций повышение концентрации нуклеотидов не зависит от количества, внесенного в инкубационную смесь белка, однако уже при внесении 50%-ной фракции намечается тенденция увеличения деградации ДНК в зависимости от его количества. Что касается белка 60%-ной фракции, при использовании которой нами был достигнут максимальный эффект, наибольшее разрушение ДНК соответствует внесенному в инкубационную среду 1 мкг белка. Это еще раз доказывает, что активность ядерного экстракта зависит от соотношения РНК и белка, принимающих участие в демаскировании ДНК хроматина и делающих ее доступной для ДНКазы.

При разделении белка ядерного экстракта при помощи ионообменной хроматографии активная фракция явно выявилась в 0,1 N NaCl. В остальных фракциях разрушение ДНК хроматина или совсем не наблюдалось или же было на уровне контроля [3, 9]. И в данном случае

количество белка, входящего в состав активного комплекса РНК-белок, отвечало 1 мкг белка (табл. 4).

Таблица 4

Демаскирующая активность фракции белка ядерного экстракта, полученной путем ионообменной хроматографии

Инкубационная смесь ДНК 50мкг(0,5мл), РНК 25мкг(0,5мл) ДНКаза 1мкг, бекон 0,5мл	Увеличение свободных нуклеотидов в %
Хр+РНК+Б (0) 10мкг+ДНКаза	2,9±0,7
Хр+РНК+Б (0) 1мкг+ДНКаза	3,1±0,5
Хр+РНК+Б (0) 0,5мкг+ДНКаза	0
Хр+РНК+Б (0) 0,1мкг+ДНКаза	0
Хр+РНК+Б (0,1) 10мкг+ДНКаза	3,3±0,3
Хр+РНК+Б (0,1) 1мкг+ДНКаза	2,6±2,5
Хр+РНК+Б (0,1) 0,5мкг+ДНКаза	12±1
Хр+РНК+Б (0,1) 0,1мкг+ДНКаза	13±1,3
Хр+РНК+Б (0,2) 10мкг+ДНКаза	0,9±0,1
Хр+РНК+Б (0,2) 1мкг+ДНКаза	4,0±0,4
Хр+РНК+Б (0,2) 0,5мкг+ДНКаза	0
Хр+РНК+Б (0,2) 0,1мкг+ДНКаза	0
Хр+РНК+Б (0,3) 10мкг+ДНКаза	0
Хр+РНК+Б (0,3) 1мкг+ДНКаза	2,5±1,1
Хр+РНК+Б (0,3) 0,5мкг+ДНКаза	0
Хр+РНК+Б (0,3) 0,1мкг+ДНКаза	0
Хр+РНК+Б (0,4) 10мкг+ДНКаза	0
Хр+РНК+Б (0,4) 1мкг+ДНКаза	0
Хр+РНК+Б (0,4) 0,5мкг+ДНКаза	0
Хр+РНК+Б (0,4) 0,1мкг+ДНКаза	0

Для уточнения и выявления активности белка мы решили выделить белок еще одним способом. В наших ранних работах мы установили, что при нагревании до 60° экстракт полностью теряет активность. Поэтому мы обработали его до 45° (экстракт активен) и до 60° (экстракт инактивирован). Затем из этих экстрактов высаливали белок 60%-ным сульфатом аммония. Белок, подвергшийся тепловой обработке при 45° и 60°, вносили в инкубационную среду для установления их активности и эффективного соотношения белка и РНК (табл. 5).

Нами был проведен электрофорез фракций белка, полученных из ядерного экстракта: 1. после высаливания сульфатом аммония; 2. после тепловой обработки при 45° и 60° 60%-ной фракции, высаливаемой сульфатом аммония. В первом случае, при сравне-

нии электрофореграмм (9 фракций) мы сочли возможным выделить один пик белка, который обнаружен только в 50 и 60%-ной фракции белка.

аммония (70 и 90%-ные фракции), данный пик вообще отсутствует (рис. 1). При проведении электрофореза фракций белка, полученных после

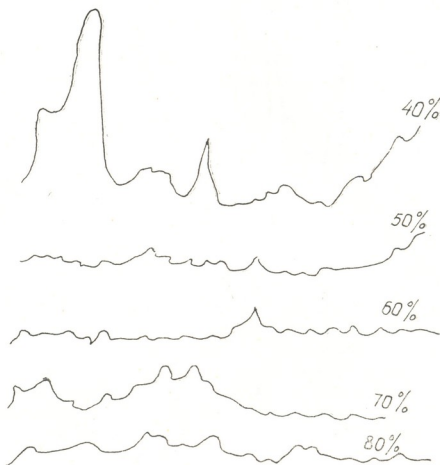


Рис. 1. Электрофореграммы белков, выделенных путем высаливания сульфатом аммония (40—60%); крестиком обозначен пик, соответствующий активной фракции белка

Таблица 5

Демаскирующая активность комплекса РНК и белка ядерного экстракта, обработанного теплом (40° и 60°) при их разных количественных соотношениях

Инкубационная смесь	Увеличение свободных нуклеотидов в %
Хр 50мкг ДНК в 0,5мл, РНК 25мкг в 0,5мл, белок 0,5мл, ДНКаза 1мкг	
Хр+РНК+Б 45° (0,1мкг)+ДНКаза	4
Хр+РНК+Б 45° (0,5мкг)+ДНКаза	8
Хр+РНК+Б 45° (1,0мкг)+ДНКаза	29
Хр+РНК+Б 45° (5,0мкг)+ДНКаза	57
Хр+РНК+Б 60° (0,1мкг)+ДНКаза	3
Хр+РНК+Б 60° (0,5мкг)+ДНКаза	3
Хр+РНК+Б 60° (1,0мкг)+ДНКаза	4
Хр+РНК+Б 60° (5,0мкг)+ДНКаза	5

Этот пик еле намечается в 40%-ной фракции, а во фракциях, высаленных при меньшем насыщении сульфатом

разделения тотального белка посредством ионообменной хроматографии, на денситограмме мы не смогли обнаружить четкого отдельного пика белка в 0,1 N NaCl, который мог бы указывать на наличие активного белка, соответствующего демаскирующей активности данной фракции (см. выше). Поэтому мы решили не приводить эти денситограммы.

При сопоставлении денситограмм белков 60%-ной фракции, обработанной теплом при 45° и 60°, нам удалось установить, что при инактивации теплом (60°) один пик белка полностью отсутствует (рис. 2) и два пика очень уменьшены. Можно сказать, что пик, обнаруженный в 50 и 60%-ных фракциях, и пик 45°-ной фракции идентичны.

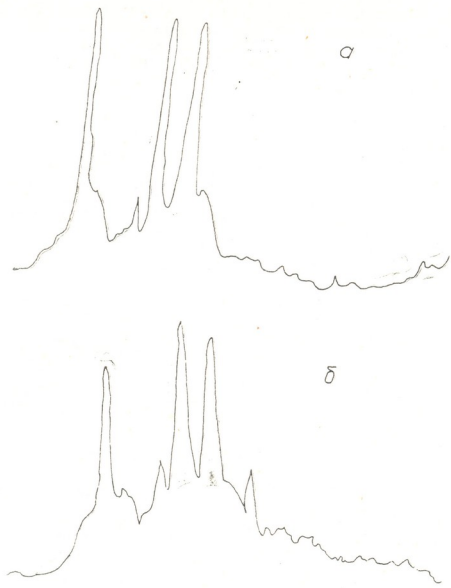


Рис. 2. Электрофореграммы белков, выделенных путем высаливания 60%-ным сульфатом аммония и затем обработанных теплом: а—60° в течение 5 мин и б—45° в течение 5 мин (при обработке белков 60° пик соответствующей активной фракции исчезает)

Таким образом, суммирование всех приведенных данных показало, что демаскирующая ДНК активность должна быть приписана белку, вы-

явленому в 50%, 60%-ных и 45°-ных фракциях, выделение которого будет предметом наших следующих исследований.

ЛИТЕРАТУРА

1. Георгиев Г. П. В кн.: Химия и биохимия нуклеиновых кислот, «Медицина», Л., 1968, 96—98.
2. Джандиери К. М., Авалишвили Н. Г., Дзидзигури Д. В., Туманишвили Г. Д. Тр. II Всереспубл. конф. по теме: «Проблемы экологической биофизики», Тбилиси, 1986, 47—49.
3. Джандиери К. М., Туманишвили Г. Д., Авалишвили Н. Г., Дзидзигури Д. В., Мгвделадзе Н. Д. ДАН СССР, 211, 2, 474—476, 1973.
4. Спирин А. С. Биохимия, 23, 5, 656—662, 1958.
5. Туманишвили Г. Д., Джандиери К. М., Дзидзигури Д. В. Изв. АН ГССР, сер. биол. 1, 1, 97—103, 1975.
6. Туманишвили Г. Д., Джандиери К. М., Дзидзигури Д. В., Авалишвили Н. Г., Кезели М. Р. Тез. III Всесоюзн. симп. по структуре и функции клеточного ядра, Харьков, 1980, 171—172.



7. Chambon P., Cissinger F., Mandel L. In: Cold spring Harbor Symp. Quant. Biol., 35, 1971, 693.
 8. Dingman M. B., Sporn M. B. J. Biol. Chem., 239, 10, 3483—3492, 1964.
 9. Jandieri K. M., Tumanishvili G. D., Avalishvili N. G., dziguri D. V., Mgvdeladze N. D. Exp. Cell Res., 84, 388—394, 1974.
 10. Tumanishvili G. D., Jandieri K. M., Dziguri D. V. Differentiation, 8, 195—199, 1977.

ქრომატინის დნმ გადამასპირებელი ვირთაგვას ღვიძლის ბირთვული ექსტრაქტის ცილების აქტიური ფრაქცია

ა. ჯანდიერი, ნ. ავალიშვილი, ნ. ბოჩორიშვილი, მ. კეზელი, გ. თუმანიშვილი

ფ. ჯავახიშვილის სახელობის თბილისის სახელმწიფო უნივერსიტეტი

რეზიუმე

შესწავლილია თეთრი ვირთაგვას ღვიძლის ბირთვული ექსტრაქტის ტოტალური ცილისა და რნმ-ის როდენობრივი თანაფარდობის გავლენა ღვიძლის ქრომატინის დნმ-ის დაშლაზე დნმ-აზებით.

ნაჩვენებია ცილისა და დნმ-ის თანაფარდობა (1 : 2), რომელიც იჭვევს ქრომატინის დნმ-ის მაქსიმალურ დეგრადაციას დნმ-აზით. აქტიური ფრაქციის გამოვლენა 2 მეთოდით ჩატარდა: 1) გამოლექვით

სხვადასხვა ჯერადობის ამონიუმის სულფატით; 2) იონცვლადი ქრომატოგრაფიით. აქტიური ფრაქცია ნანახია გამოლექვისას 50—60% ამონიუმის სულფატით და 0,1 N NaCl იონცვლადი ქრომატოგრაფიისას.

ზემო აღნიშნული ფრაქციების ელექტროფორეზით აკოილამიდის გრადიენტულ გელში (3—25%) დენსიტოგრაფიებში აღმოჩნდა ცილის პიკი, რომელსაც შეიძლება მიეწეროს კომპლექსის აქტიობა.

THE ACTIVE FRACTION OF RAT LIVER NUCLEAR EXTRACT DEMASKING DNA CHROMATIN

K. JANDIERI, N. AVALISHVILI, N. BOCHORISHVILI, M. KEZELI, G. TUMANISHVILI

I. Javakhishvili Tbilisi State University, Georgia

S u m m a r y

The effect of DNA-ase on liver chromatin DNA was studied at different ratios of total protein and RNA from liver nuclear extract. The effect reaches maximum in the case when protein/RNA ratio is 1/2. In order to reveal an active fraction total protein was fractionated in two ways: 1) by precipitation in ammonium sulfate solution and 2) by ion exchanging chromatography. The ac-

tive fraction was precipitated at 50%—60% concentrational interval of ammonium sulfate and eluted with 0.1 N NaCl when chromatographed.

PAG—electrophoresis on 3%—25% resolving gel showed an existence of specific protein peak in these fractions, which may account for the above-mentioned activity of the whole complex.

УДК 581.8

НАУЧНЫЙ ОТЧЕТ

О НЕКОТОРЫХ РЕЗУЛЬТАТАХ СОВМЕСТНЫХ ИССЛЕДОВАНИЙ ГЕНЕТИЧЕСКИХ РЕСУРСОВ КУЛЬТУРНОЙ ФЛОРЫ ЗАПАДНОЙ ГРУЗИИ

Р. К. Беридзе, П. Ханельт, В. Н. Канделаки, Т. С. Гиргвлиани,
Ю. Шульце-Мотель

Институт ботаники им. Н. Н. Кецховели АН Грузии, Тбилиси

*Центральный институт генетики и исследований культурных растений Германии,
Гатерслебен*

Поступила в редакцию 12.03.90

Как известно, последние десятилетия знаменуются глобальным стремлением сохранить растительные генетические ресурсы местных, локальных и примитивных видов и форм культурных растений, сохранившихся до наших дней и поныне возделываемых, ибо культурные растения с хозяйственно ценными качественными свойствами могут быть утрачены.

Несмотря на достижения биотехнологии и гентехники, естественный отбор культурных растений и их сородичей остается необходимым условием их возделывания. К этой проблеме относится также и сохранение этих драгоценных ресурсов в генетических банках.

Закавказье, являющееся классическим географическим центром происхождения многих культурных растений, первоначально отнесено Николаем Ивановичем Вавиловым к юго-западному азиатскому генцентру, впоследствии же было выделено им в самостоятельный переднеазиатский генцентр.

Грузия, одна из важнейших частей этого региона, изобилует весьма ценными видами зерновых, зернобобовых, огородных, плодовых, и исходных диких видов, представленных здесь удивительным разнообразием интраспецифических форм.

Создание этих культур имеет глубокие исторические корни, связанные с хозяйственной деятельностью грузинского народа. Продолжавшаяся

веками внутри- и межвидовая гибридизация создавала и формировала интересные и разнообразные сорта и формы культурных растений, хорошо приспособленные к микроклимату и местным экологическим условиям.

Интенсификация сельскохозяйственного производства ведет к генной эрозии, к уменьшению генетического разнообразия, т. е. к снижению адаптивности популяции данного вида или сорта. Таким образом, эти виды, носители высококачественных признаков, могут полностью исчезнуть из сельского хозяйства Грузии. Поэтому на данном этапе не существует более важной проблемы, чем сохранение этих аборигенных, постепенно исчезающих культур.

Древние культуры, представленные ныне в составе современной флоры Грузии, свидетельствуют о том, что грузинский народ сохранил материальные следы хозяйственной деятельности аборигенного населения. Этим и объясняется особый интерес к культурной флоре Грузии, проявляемый специалистами разных стран.

Возрастающие требования к качеству сельскохозяйственной продукции, слабая изученность культурной флоры Грузии, фрагментарность сведений о некоторых культурах Грузии, поставили новые задачи перед всей ботанической наукой.

Создававшаяся ситуация потребовала роста международного сотрудничест-



ва в целях использования зарубежных достижений и возможностей.

С 1981 года изучение культурной флоры Грузии проводится на основе интенсивных эволюционно-ботанических исследований по выявлению генетических ресурсов культурных растений, включая изучение выявленного генофонда и его использование в народном хозяйстве.

Упомянутые фундаментальные исследования выполняются по линии международных научно-технических связей между Институтом ботаники им. Н. Н. Кецховели АН Грузии и Центральным институтом генетики и изучения культурных растений Германии (г. Гатерслебен) в рамках десятилетней темы.

В статье изложены предварительные результаты проведенных экспедиционных исследований (1981—1985) по сбору растительно-генетического материала культурных растений Западной Грузии.

Сбор материала проводился экспедиционно-комплексным методом в западной части республики (Сванети, Рача-Лечхуми, Имерети, Гурна и Ачара) — от уровня моря до крайних пределов ведения сельского хозяйства.

Многолетнее (1981—1985) ботаническое изучение генофонда Западной Грузии, представленного культурными (полевые культуры) и дикорастущими видами и формами, проводилось, в основном, в полевых условиях, на опытных участках ИГ и КР Германии, а также, по отдельным культурам, на Дигомской экспериментальной базе Института ботаники АН Грузии и в Верхней Сванети. Для сопоставительного изучения была использована мировая коллекция гербария Германии.

При изучении коллекции были использованы классификаторы отдельных родов, разработанные с участием разных стран.

Предложена новая внутривидовая таксономия некоторых наиболее значимых видов. Таксоны оформлены в соответствии с правилами Международного кодекса ботанической номенклатуры.

Полевые и лабораторные исследования дополнялись изучением гербарных материалов, собранных в различных регионах Грузии. Накоплен

большой фотодокументальный материал, о регионах проведения экспедиции и собранном материале.

Целенаправленные поиски и оценка новых комплексов признаков у культурных растений Западной Грузии показали, что эта территория, как часть классического переднеазиатского генцентра, и поныне представляет исключительный интерес для определения генофондов растительных ресурсов важных для человека культурных растений: зерновых, зернобобовых, овощных, пряно-технических и их диких сорочидей. Благодаря наличию эндемичных видов и их изменчивости интересные аборигенные сорта и формы культурных растений сохранились до наших дней и продолжают возделываться в основном в высокогорных регионах республики. Следует отметить, что за последнее время в сельском хозяйстве Грузии произошли большие структурные изменения. Вступив на путь общественного хозяйствования Западная Грузия начала крупномасштабное возделывание субтропических плантационных культур (чай, цитрусов, тунга). Начиная с 1975 года в различных горных областях (Сванети, Рача) земледелие, как менее продуктивный вид хозяйствования, было заменено животноводством. Эти изменения повлекли за собой весьма заметные перемены, ограничения спектра возделываемых трибов культурных растений. Некоторые группы культурных растений, возделывание которых не прекратилось полностью, зачастую становились редкими реликтовыми культурами. Это относится, в частности, к просу — *Panicum italicum*, *Panicum milaceum*, которые как важнейшие зерновые культуры выращивались раньше, теперь же возделывается лишь очень небольшим числом крестьян. Упомянутые культуры пришлось принести в жертву продуктивному кукурузоводству, так же как и эндемичные сорта пшеницы. Последние, уже в течение более 20 лет полностью перестали возделываться, несмотря на то, что крестьяне из прежних областей возделывания до сих пор вспоминают об их превосходных качественных признаках.

С ростом значения кукурузы как полевой культуры продолжает сохраняться тенденция, возникшая после ввоза этой культуры в Грузию в конце XVII века; данная тенденция уже в середине прошлого столетия привела к господствующему положению кукурузы на полях Западной Грузии.

И, наконец, в жертву переориентации на животноводство в Верхней Сванети были принесены очень многие локальные формы зерновых, прежде всего *Triticum aestivum* и *T. durum*. От разнообразия форм, описанного Вавиловым, осталась лишь незначительная часть, используемая иногда в качестве примеси к местным сортам ячменя. Еще в 1975 году, здесь, вплоть до высоты 2300 м над уровнем моря, практиковалось возделывание этих локальных форм пшеницы, а сегодня, на нынешних выгонах, можно обнаружить лишь ограды прежних полей. Аналогичные явления наблюдаются и в отношении зернобобовых культур, у которых аборигенные формы были в широких масштабах вытеснены фасолью обыкновенной, которая существует здесь в таком удивительном разнообразии форм, что Грузия правильно считается вторичным генцентром этого вида. Некоторые из местных бобовых культур, как например люпин белый *Lupinus albus*, и прежде не особенно распространенные, почти полностью перестали возделываться.

Табл. 1 содержит данные о всех собранных за 1981—1985 годы прото-

типах; общем числе образцов, переданных для сохранения и размножения в отделение генбанка (после разделения на морфологически различающиеся варианты); о вычисленной на основе этого процентной норме увеличения числа первоначальных образцов; о доле использования соответствующей группы.

Эти данные убедительно доказывают доминирующую роль зерно-бобовых, составляющих почти половину от собранного материала, и большого процента овощей, составляющих четвертую часть всего материала. То же справедливо прежде всего для бобовых (и зерновых) — большой рост числа прототипов благодаря разделению на различные варианты семян (по цвету, форме и размерам), которое было произведено при первой обработке собранного материала.

В табл. 1 устанавливается связь общего числа прототипов различных групп использования, которые были сданы в отделение генбанка, с прототипами, которые и поныне существуют в жизнеспособном состоянии в коллекциях этого отделения, а также с долевым содержанием этого материала в общем объеме соответствующей группы использования. В другой колонке дается число образцов еще существующих в настоящее время прототипов, которые были размножены и переданы для долговременного хранения в холодильниковое семеновохранилище.

Как видно из этой таблицы, минимальные общие потери составляют

Таблица 1

Материал сбора полезных растений 1981—1985 гг. с учетом его доли в общем материале, в материале семеновохранилища и прибыли в коллекциях генбанка

Группы полезных растений	К-во образцов	Доля в общем материале, %	Полученное количество образцов в коллекциях генбанка	Соответствует части общего материала в %	К-во образцов в холодильниковом семеновохранилище	Соответствует части общего материала в %
Зернобобовые	1080	48,3	745	69,0	151	20,3
Овощи	559	25,0	497	88,4	147	29,8
Пряновкусовые (включая масличные и лекарственные)	175	7,8	141	80,6	87	40,4
Зерновые	399	17,8	310	77,7	134	43,2
Итого	<u>2238</u>	<u>100,0</u>	<u>1701</u>	<u>76,0</u>	<u>519</u>	<u>33,4</u>
	2213	98,9	1693	78,9		

около четверти прототипов. Причина потерь собранного материала в ходе размножения в Гатерслебене вызвана тем, что среди зернобобовых, прежде всего у *Phaseolus vulgaris* и *glycine* taxa, имеется очень большая доля поздно созревающих прототипов, изучение которых осуществляется в Грузии.

Количественные данные о материале, уже находящемся на долговременном хранении, показывают, что несмотря на все трудности, в холодильных камерах хранится большой их процент (около 60). При этом особенно благоприятно выделяется группа пряновкусовых растений и зерновых, в то время как из овощей и зернобобовых на хранение удалось отправить лишь часть, намного меньшую, чем половина. Эти количественные данные хорошо отражают сложности, связанные с сохранением сортифта в большинстве случаев у аллогамных видов овощей и довольно малый процент размножений у бобовых (в частности у форм *Phaseolus vulgaris*), а также указывают на не представляющее особых трудностей сохранение видов овощей, произрастающих в умеренном климате.

Одновременно данные числа показывают, каким трудоемким и длительным процессом может быть включение собранного материала в существующие коллекции генбанка, а также размножение этого материала, что в наиболее благоприятном случае требует двух лет на выращивание (например зерновых), а для аллогамных видов, культивирование которых весьма сложно, необходимо более 4 циклов семеноводческого размножения, прежде чем материал будет воспроизведен в таком количестве, что его можно подготовить к выдаче потенциальному потребителю или к долговременному хранению.

Таким образом, результаты проведенных исследований являются документальными данными об ассортименте коллекций, основой и определяющим ориентиром для дальнейших сборов и исследований растительных генетических ресурсов Грузии.

Ныне более 80% размноженного и изученного материала заложено в холодильниковое семеновохранилище, чем и гарантируется сохранность выявленного богатейшего генофонда по-

степенно исчезающих аборигенных сортов и форм важнейших для I тысячелетия культуры растений Грузии. Материал этот представляет собой весьма ценное дополнение к существующей мировой коллекции культурных растений.

Практическое значение выполненных работ заключается в расширении, соответственно требованиям по выращиванию и использованию в Грузии и Германии различных видов культурных растений, среди которых многие имеют решающее значение в сельском хозяйстве этих стран: кукуруза, ячмень, пшеница, фасоль и некоторые овощные растения.

Не следует, однако, забывать и об экономически менее важных видах растений, таких как лук-порей, укроп, *Trigonella saerulea*, базилик, козские бобы и др. Большое практическое значение имеют также обнаруженные нами в высокогорных регионах Грузии интересные формы ячменя, яровые формы пшеницы, томат, тыква и шпинатные растения.

Из собранного и изученного материала нами выделено более 500 форм по признаку скороспелости, с сохранением характерных, хозяйственно ценных, устойчивых свойств, обеспечивающих продуктивность, наряду с высоким качеством. Внедрение их в сельское хозяйство республики является неотложной задачей.

Далее, для выяснения эволюционных родственных связей и путей происхождения некоторых культурных растений, необходимо было параллельно изучить палеозноботанический материал доисторических культурных растений на территории Западной Грузии. Этот раздел совместной работы выполнен профессором Шульце-Мотелем.

Начнем с палеозноботанического материала Верхней Сванети. Материал обнаружен археологом Ш. Чартолиани и изучен нами в Местийском музее.

Чубери, I тысячелетие до н. э.

Находка содержит зерна *Secale cereale* и незначительное количество зерен *Avena sp. Z.*

Эцери, сел. Пхтрери, II тысячелетие до н. э.

Находка содержит следующие виды: *Panicum miliaceum* L. — часть плодов

заклочена в блестящую черную пленку; эмбрионы частично сохранились.

Triticum aestivum L. (compactum). Этот вид пшеницы представлен приблизительно 730 зернами хорошей сохранности.

Triticum dicocum — вид представлен очень хорошо сохранившимися зернами; обнаружено также несколько усиков колосков.

Secale cereale Z. — обнаружено около 350 зерен ржи.

Hordeum vulgare L. — оказалось около 20 зерен; некоторые из них несколько увеличены вследствие обугливания.

Vicia faba L. — два семени (6,1 x 5,0 и 6,2 x 5,3 мм) и одна семядоля (5,8 x 4,4 мм).

Pugus sp. — два целых плода и один расщепленный плод были определены как *Pugus* sp.

Согласно Лисицной и Прищепенко (1977), культурные растения из добытого Ш. Чартолиани в Эцери материала I тысячелетия до н. э. были идентифицированы В. Л. Менабде как

Triticum aestivum L., *Panicum miliaceum* L., *Setaria italica* (L.) P. B. Имеющийся материал не содержит остатков *Setaria italica*, зато, кроме других видов, включает еще и *Triticum dicocum*, *Hordeum vulgare*, *vicia faba* и *Pugus* Sp... Отсюда явствует, что эти два материала не идентичны

Латали, XIII век н. э.

Материал был представлен нам одним из авторов данной статьи Тамарой Гиргвилиани. Он был обнаружен в 1978 г. при строительстве дома на месте старого поселения.

Материал состоит из обугленных зерен ячменя. Этот пленчатый ячмень, представляющий собой слегка изогнутые зерна, можно считать двурядным. Имеется также пшеница *Tr. aestivum*, представленная двумя формами: мелкозерновой и крупнозерновой.

Далее совместная экспедиция посетила раскопки, проводимые в г. Вани (III век до н. э. и II—I века до н. э.). Мы получили возможность изучить

материал обугленных культурных растений. Две большие колхидские амфоры были наполнены *Panicum miliaceum* (определено В. Л. Менабде).

Наши исследования выявили следующие культурные растения:

— ячмень, *Hordeum vulgare* L. В музее г. Вани были выставлены два стеклянных сосуда с ячменем, относящимся к III веку до н. э.;

— просо посевное, *Panicum miliaceum* L.;

— пшеница, *Triticum* Sp.

Пшеница весьма мелкозернистая; она может быть отнесена к *Triticum aestivum* (compactum), а также и к *Tr. carthlicum*. Вопрос ее идентификации должен оставаться открытым.

Поселение Немарну, Абашский район, III—II вв. до н. э.

Колхидская археологическая экспедиция Центра археологических исследований АН Грузии.

Проба содержит зерна *Triticum aestivum*.

Наличие в Грузии множества разнообразных видов пшеницы поднимает вопрос о том, насколько точно археологические остатки этих видов могут быть идентифицированы только по одним их зернам. Лишь в немногих случаях обнаруживаются также и остатки колосьев или колосков, которые облегчают определенные виды. До сих пор археологические остатки пшеницы идентифицировали лишь с немногими, хорошо распознаваемыми уже только по зерну видами, как например, *Triticum monococum* L., *T. dicocum* Schrank, *T. aestivum* L. Правда, последний вид не так уже легко отличить от *T. durum* Pesf.

Проблема идентификации археологических остатков пшеницы на основе лишь зерен не могла быть решена в рамках настоящего отчета.

Знания в области древнейших культурных растений Грузии пока еще не очень велики. Археологам и ботаникам необходимо продолжать исследования и в дальнейшем, чтобы пополнить наши знания о культурных растениях и о раннем земледелии Грузии.

რ. ბერიძე, პ. ხანელტი, დ. კანდელაკი, თ. შულტზე-მოტელი
დასაბუთებთ საპარტიკუმო კულტურული ფლორის გენეტიკური
რესურსების ერთობლივი გამოკვლევის შედეგები

R. BERIDZE, P. HANELT, D. KANDELAKI, J. SCHULTZE - MOTEL.
RESULTS OF THE JOINT STUDIES ON THE GENETIC RESOURCES
OF CULTURED FLORA OF WEST GEORGIA.

საბუნებისმეტყველო

1. ვერსიაში იბეჭდება დასრულებული ექსპერიმენტული და თეორიული სამუშაოს ორი-გინდელი ნაშრომები ბიოლოგიის დამტიყებელი დარგების მიხედვით: მიმოხილვითი სტატიები, მომზადებული რედაქციის შეკვეთით; მოკლე წარჩევები და რეცენზიები ვერსიაში ქვეყნდება ჩატარებული სამეცნიერო-საორგანიზაციო ღონისძიებების ქრონიკა.
2. ექსპერიმენტული ნაშრომების მოცულობა ცხრილებით, ნახატებით, ნახატების ქვეყნარჩევებით, ლიტერატურის სიითა და რეზიუმეებით რეგულ და ინგლისურ ენებზე არ უნდა აღემატებოდეს ორი ინტერვალის დაბეჭდილ (მარცხენა ველზე) 3 სმ დაცულებით) 12 გვერდს. ნახატების ჩაღებნა არ უნდა აღემატებოდეს 5-ს. მიმოხილვითი სტატიების მოცულობა დასაშვებია 24 გვერდამდე, მოკლე წარჩევები — 4 გვ. მოკლე წარჩევების შეიძლება დაერთოს 1—2 ნახატს.
3. ავტორები არსებულ და ინგლისურ ენებზე (არ უნდა აღემატებოდეს ერთ გვერდს), ლიტერატურის სია, ცხრილები და ნახატების ქვეყნარჩევები წარმოდგენილი უნდა იყოს ცალკეულ ფურცლებზე.
4. დადანი (არ ვებეჭდვარად) თან უნდა ერთვოდეს დაწესებულების მმართველს და საექსპერიმენტო კომისიის დასავლეთ პირველ გვერდზე მარცხნივ უნდა ეწეროს უკან იხედვის მარჯვნივ — ბიოლოგიის დარგი, შემდეგ სტატიის დასახელება, ავტორების ინიციალები და ვეარები, იმ დაწესებულების დასახელება, სადაც შესრულდა ნაშრომი, და მოკლე ანოტაცია (0,5 გვერდი). სტატიის ზედა აუარს ვეაა ავტორი, სტატიის ბოლოს სრულად უნდა იყოს აღნიშნული ავტორის სახელი, მამის სახელი და ვეარი, ბინისა და სასახურის მისამართი და ტელეფონის ნომერი.
5. სტატია უნდა შეიცავდეს შესავალს, მეოთხეისა, ეკლვის შედეგებს და შედეგების განხილვას.
6. აღსტარაციებზე — მკვირი გოტოები, ნახატი გრაფიკები, შესრულებული ზღირ ქალკედი ან ქალკედი, წარმოდგენილი უნდა იქნეს არ ვებეჭდვარად, ილუსტრაციებზე წარჩევები შესრულებული უნდა იყოს ტუშით, ილუსტრაციის უკანა მხარეს ვეაწერი აღნიშნული უნდა იყოს მისი ნომერი, ავტორის ვეარი და სტატიის შემოკლებული დასახელება (სეკულაზიონის შემთხვევაში აღნიშვნის ზემო და ქვემო მხარეზე).
7. კორექტული ავტორების ვეარები ტექსტში მოყვანილი უნდა იყოს სტატიის შესავალში ტრანსკრიპციით, ლიტერატურის სიაში კი — ორიგინალური ტრანსკრიპციით. ლიტერატურის სია ღებნა ანაზის მიხედვით, შემდეგ თანამშედეგობით: ქრონოლოგი, რუსული, ლათინური.
8. ორიგინალის (ტექსტში იგი კვლავტულ ვერჩილებში) შემდეგ მოყვანილი უნდა იქნეს ავტორის ვეარი და ინიციალები, გამოცემის დასახელება; პერიოდული გამოცემებისათვის — ტომი, ნომერი, ვეარლები, წელი, არაპერიოდული — გამოცემლობის დასახელება, გამოცემის ადგილი, ველი და ვეარლები.
9. ბილწარჩევები, რომლებშიც არ არის დაცული აღნიშნული წესები და რომლებიც არ შეესაბამება ვერჩილის პრიცილს, უბრუნდება ავტორს, ვეაა სტატია იგზავნება საიკავშირედ.
10. სტატიების კორექტურის ვაწორებისას დაბეჭებითი ეკლვების შეტანა ტექსტში დეშევალია.
11. რედაქცია იტოვებს უფლებას შეამოკროს და შეასწოროს სტატიის ტექსტი.
12. ავტორს უფსად ეწეაა თორმეტი ანაბეჭდი.

К СВЕДЕНИЮ АВТОРОВ

1. В журнале печатаются завершенные, оригинальные работы экспериментального и теоретического характера по утвержденным редакцией разделам биологии, обзорные статьи, написанные по заказу редакции, а также краткие сообщения и рецензии. Периодически в журнале помещается краткая хроника о проведенных научно-организационных мероприятиях.
2. Объем 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. Объем обзорной статьи — 24 страницы, краткого сообщения — до 4 страниц машинописи. Краткие сообщения можно иллюстрировать 1—2 рисунками.
3. Резюме на грузинском и английском языках, список литературы, таблицы и подписи к рисункам должны быть представлены на отдельных листах.
4. Рукопись (в двух экземплярах) должна иметь направление учреждения и заключение экспертной комиссии. На первой странице слева приводятся индексы 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.).
5. Статья должна быть подписана всеми авторами. В конце статьи необходимо указать полностью имя, отчество и фамилию авторов, домашний и служебный адреса, телефоны.
6. Статья должна содержать введение, методику, результаты исследований и обсуждение результатов.
7. Иллюстрации — четкие фотографии на глянцевой бумаге и рисованные графики на кальке или белой чертежной бумаге — следует представлять в двух экземплярах. Надписи на иллюстрациях должны быть выполнены тушью. На обороте иллюстраций следует обозначать карандашом ее номер, фамилию автора и сокращенное название статьи, а в случае необходимости отметить верхний и нижний край.
8. Фамилии цитируемых авторов следует давать в транскрипции, соответствующей тексту статьи и в 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 неперiodических — название издательства, место, год издания и страницы.
9. Рукописи, оформленные без соблюдения указанных правил, а также не соответствующие профилю журнала, возвращаются автору. Все рукописи проходят рецензирование.
10. Корректуры статей даются авторам для проверки, правки и визиования. Дополнительные изменения в тексте не допускаются.
11. Редакция оставляет за собой право сокращать и исправлять тексты статей.
12. Авторы получают бесплатно 12 отдельных оттисков.

Цена 2 руб.

Индекс 76204

819/23 2 руб.



ISSN - 0013-788X
Институт биологии им. Л. Пастера, сер. биологическая, 1992, т. 16, № 4, стр. 288.