



МАТЕРИАЛЫ

МЕЖУНИВЕРСИТЕТСКОЙ ШКОЛЫ-СЕМИНАРА НА ТЕМУ: „УСТОЙЧИВОСТЬ И НАДЕЖНОСТЬ БИОЛОГИЧЕСКИХ СИСТЕМ“

(20-30 мая 1990 г. к. Кутаиси)





ТБИЛИССКИЙ ГОСУДАРСТВЕННЫЙ УНИВЕРСИТЕТ им. И. ДЖАВАХИШВИЛИ
БИОЛОГИЧЕСКИЙ ФАКУЛЬТЕТ ТГУ
МИНИСТЕРСТВО НАРОДНОГО ОБРАЗОВАНИЯ ГРУЗИИ
ОТДЕЛЕНИЕ ФИЗИОЛОГИИ И ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОЙ МЕДИЦИНЫ ГРУЗИИ

МАТЕРИАЛЫ

У МЕЖУНИВЕРСИТЕТСКОЙ ШКОЛЫ-СЕМИНАРА НА ТЕМУ:
"УСТОЙЧИВОСТЬ И НАДЕЖНОСТЬ БИОЛОГИЧЕСКИХ СИСТЕМ"

/ 20 - 30 мая 1990 г., г. Кутаиси /

Издательство Тбилисского университета

Тбилиси 1997

В сборник вошли материалы междуниверситетской школы-семинара на тему: "Устойчивость и надёжность биологических систем", проведённой 20-30 мая 1990г. в г. Кутаиси.

Редакторы: проф. Д.А.ОНИАНИ, доц. В.Д.ЧХАИДзе

საქართველოს სახელმწიფო უნივერსიტეტის გამომცემლობის
საკლავო-სემინარი თემაზე: "ბიოლოგიური სისტემების მდგრადობა და სტაბილურობა".
/20 - 30 მაისი 1990 წ. ქ. კუთაისი/
მისე ები
/რუსულ ენაზე/
თბილისის უნივერსიტეტის გამომცემლობა
თბილისი 1997

ДАЛЬНОДЕЙСТВИЕ И РЕЗОНАНСНЫЕ ЭФФЕКТЫ В СИСТЕМЕ ПУЛЬСИРУЮЩИХ ДИССИПАТИВНЫХ СТРУКТУР

Е.А. Андреев*, А.В. Панфилов, Р.Н. Храмов*

Институт биологической физики АН СССР, г. Пуцдино, Московская обл.
 Временный научный коллектив "Отклик", г. Киев

Одним из основных механизмов, с помощью которых возникает пространственная упорядоченность в исходно однородных тканях при развитии организма, является образование диссипативных структур /1/. Такие структуры возникают в системах активатор-ингибитор при соответствующем выборе коэффициентов диффузии и кинетики системы /2/. Предполагается, что диссипативные структуры могут играть большую роль в стабилизации структуры и функции живого организма /3/. Важным является изучение способов управления диссипативными структурами за счет целенаправленных внешних воздействий, в частности за счет действия миллиметрового излучения электромагнитных волн. При этом особый интерес представляет нахождение резонансных воздействий, которые могли бы распространяться за пределы области их приложения /3/.

Недавно в модели реакция-диффузия был получен режим пульсирующих диссипативных структур /4-6/. Ряд характеристик этого режима, в том числе наличие собственной частоты колебаний системы, позволял надеяться, что в ней возможны резонансные эффекты.

Данная работа посвящена изучению в численном эксперименте реакции режима пульсирующих диссипативных структур на одновременную смену коэффициентов диффузии ингибитора и активатора - возмущение, имитирующее электромагнитное воздействие. Физическая правдомерность этого основывается на работе /7/, где получено, что при действии миллиметрового излучения на воду существенно увеличивается ее микроконвекция. В работе показано, что наиболее эффективным является резонансное воздействие, обнаружены эффекты дальнего действия - распространение волны изменения состояния структуры за границы области приложения воздействия.

В работе использована двухкомпонентная модель типа Фитц-Хью, Нагумо, подробно описанная в работе /6/ настоящего сборника.

В данной работе в отличие от /6/ были использованы шаги по времени $\Delta t = 0.1$ и по пространству $\Delta x = 1$.

При этих значениях параметров режим пульсирующих диссипативных структур наблюдался в следующем интервале значений коэффициента диффузии ингибитора: $2.65 \leq D_I \leq 2.95$. Как и в /6/ были использованы граничные условия Неймана.



Результаты. В работе изучено влияние внешних воздействий на пульсирующую диссипативную структуру. При $D_L = 2.7$ ширина пика периодически менялась с периодом $T_k = 57$ от максимальной ширины пика $X_{\max} = 12$ до минимальной $X_{\min} = 4$. Мы исследовали реакцию данной структуры на периодическое изменение в модели коэффициентов диффузии ингибитора и активатора (умножив их на параметр γ).

Задавалось одновременное во всех точках ступенчатое изменение γ от значения $\gamma = .1$ до $\gamma = 1,1$ с периодом T . Смотрели за изменением собственного периода колебаний структуры T_k и за изменением ширины пиков X_{\max} , X_{\min} . Данные расчетов приведены в Таблице. Видно, что возмущение не влияет на собственный период колебаний структуры, и немного увеличивает амплитуду изменений ширины пика. Видно, что эти изменения, в пределах точности счета, не зависят от периода возмущения T .

| Стимуляция γ | T_k | X_{\max} | X_{\min} |
|--------------------------------------|-------|----------------|------------|
| нет | 57 | 12 | 4 |
| периодическая ($T = 10$) | 57 | 15 | 3 |
| периодическая ($T=40$) | 57 | 15 | 2,3 |
| периодическая ($T=70$) | 57 | 15,5 | 2,5 |
| резонансная противофазная ($T=57$) | | стационар 8 | 8 |
| резонансная синфазная ($T=57$) | | исчезновение | |

При резонансном воздействии ($T = T_k = 57$) картина совершенно изменилась. Оказалось, что в зависимости от соотношения фаз возмущения и собственных колебаний системы возможны 2 ситуации.

1. Исчезновение структуры после нескольких колебаний и установление стационарного по пространству распределения $A \neq 0$ - в случае синфазного воздействия - утоньшение структуры совпадает с уменьшением

γ .

2. Установление стационарной диссипативной структуры с шириной $X = 8$ в случае противофазного воздействия - утоньшение структуры совпадает с увеличением γ .

Таким образом, в случае пульсирующих диссипативных структур наиболее эффективным является резонансное воздействие с периодом, совпадающим с периодом собственных колебаний системы.

В данных расчетах значение γ изменилось одновременно во всех точках среды. Однако для ряда приложений важно изучение локальных



воздействий на параметры диссипативных структур /3/. Для этой цели мы получили диссипативную структуру, содержащую 7 пиков, и изучили ее реакцию на локальное воздействие (рис.1). Видно, что локальное воздействие, приложенное при $150 \text{ T} = 600$, привело к гибели первой диссипативной структуры, однако при этом стабилизировалась вторая структура. Отметим, что вторая структура находилась за пределами приложения воздействия. Вторая структура стабилизирует 3-ю и т.д. Таким образом возникла волна перехода из режима пульсирующих в режим стационарных диссипативных структур. За время расчета $T = 3000$ мы наблюдали стабилизацию 6-ти пиков.

Обсуждение

В основе наблюдавшегося эффекта распространения локальных воздействий за пределы области приложения лежит тот факт, что при данных значениях параметров в системе (I) одновременно могут существовать 3 устойчивых режима: режим покоя $A = I = 0$, режим пульсирующих, и режим стационарных диссипативных структур.

Волна перехода между этими состояниями, распространяясь за пределы области приложения внешнего воздействия, может передавать информацию о нем, т.е. осуществлять дальное действие в данной системе, причем такая волна, по-видимому, может распространяться на любые расстояния от точки приложения воздействия, т.к. причина ее распространения зависит только от взаимодействия данной остановившейся структуры и соседней с ней колеблющейся. Тот факт, что волна переводит пространственную структуру из одного устойчивого состояния в другое, позволяет считать ее автоволной, точнее одним из частных случаев автоволы, волной триггерного перебрса.

На основании того, что у системы существует три устойчивых режима, можно предположить, что в ней могут реализоваться и другие типы волн перехода, например, волна перехода стационарных диссипативных структур в пульсирующие, либо волна перехода пульсирующих структур в однородное состояние $A = I = 0$. Искать эти режимы, по-видимому, стоит варьируя как коэффициент диффузии ингибитора D_I , так и пространственный период структуры.

Литература

- Turing A.W. - Phil. Trans R.Soc. B. 237, p.37 (1952).
- Николис Г., Пригожин И, Самоорганизация в неравновесных системах. М., Мир, 1989.
- Андреев Е.А., Белый М.У., Куценко В.А., Ливенев Л.С., Пясецкий В.И., Ситько С.П., Скопек М.И., Талько И.И., Ддин В.А. В сб. Применение миллиметрового излучения низкой интенсивности в биологии и медицине. М., 1985, с.53.

4. В.В.Гафийчук, Б.С.Кернер, И.И.Лазурчак, В.В.Осипов. Микровольметра, т.15 (1986), с.180.
5. В.В.Осипов, И.И.Лазурчак, Б.С.Кернер, В.В.Гафийчук. Микровольметра, т.16 (1987), с.23.
6. А.В.Панфилов, Р.Н.Храмов. Статья в данном сборнике, стр. 169.
7. Бецкий О.В., Казариков К.Д., Путвинский А.В.; Шаров В.С. В сб. Эффекты нетеплового воздействия миллиметрового излучения на биологические объекты. М., 1983, с.97.

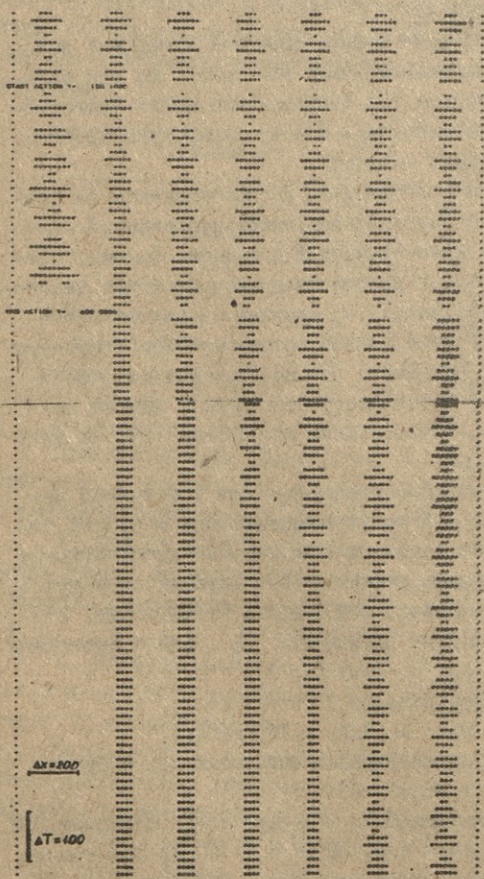


Рис. 1 Дальнодействие в системе пульсирующей диссипативной структуры. Вниз идет шкала времени, горизонтально ось X. Масштаб показан в левом нижнем углу рис. Время приложения локального воздействия 150 Т 600. Воздействие на точки с координатами X 30, $D_I = 2,8$.

$\Delta X = 200$

$\Delta T = 100$



О ВЛИЯНИИ ДИМЕДРОЛА НА НЕКОТОРЫЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ
ЦИТОХРОМ Р-450-ЗАВИСИМОЙ СИСТЕМЫ МИКРОСОМАЛЬНОГО ОКИСЛЕНИЯ
ПЕЧЕНИ КРЫС

Ахалая М.Я., Деев Л.И.

Лаборатория радиационной биологии, биологический факультет
Московского государственного университета им. М.В.Ломоносова

Показано, что один из антигистаминных препаратов - димедрол - значительно усиливает токсическое действие морфина и некоторых его производных [1]. Одной из вероятных причин этого эффекта может быть подавление димедролом активности ферментов эндоплазматического ретикулума печени, катализирующих реакции метаболизма многих лекарственных веществ, в том числе и морфина.

Для проверки этого предположения было изучено влияние димедролла на фармакологическую активность гексенала и способность микросомальной фракции печени крысы осуществлять реакцию *o*-деметилирования паранитроанизола, т.е. на тесты, часто применяемые при исследовании действия различных факторов на активность системы микросомального окисления ксенобиотиков [2, 3]. Для выяснения одного из возможных механизмов обнаруженного ингибирующего эффекта димедролла было изучено также его взаимодействие с основным ферментом данной системы - цитохромом Р-450.

МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ. В работе использовали предварительно голодавших в течение 20-24 часов крыс-самцов линии Бистар массой 180-250 г. Во всех проведенных экспериментах контрольные и опытные группы содержали не менее 6-8 животных. Фармакологические препараты димедролла и гексенала вводили животным внутривенно в дозах 30 и 100 мг/кг веса, соответственно. При изучении влияния димедролла на фармакологический эффект гексенала /оцениваемый по продолжительности сна животных/, последний вводили через 15 минут после введения димедролла. Подопытных животных декапитировали и перфузировали печень 1,15 % КС1. Микросомальную фракцию печени выделяли методом дифференциального центрифугирования [4]. Белок определяли по [5]. Паранитроанизол-*o*-деметилазную активность



Институт биохимии
Академии наук СССР
Ленинградский филиал

опенивали методом [2]. При изучении реакции N-деметилирования димедрола инкубационная смесь объемом 1,7 мл содержала 50 мМ Трис-НС1 буфер /рН 7,4 при 37°C/, 1,33 мг/мл микросомального белка, 0,02-0,4 мМ димедрола, 12 мМ MgSO₄ и 1 мМ# НАДФН. После 10-минутной инкубации при 37°C измеряли количество образовавшегося формальдегида [6]. Скорость реакции деметилирования паранитроанизола и димедрола выражали в нмоль паранитрофенола и формальдегида в минуту на мг микросомального белка. Значения кажущихся констант Михаэлиса /K_м/ и максимальных скоростей /V_{макс}/ этих реакций вычисляли методом Лайнуивера-Берка. Статистическую обработку полученных результатов проводили по методу наименьших квадратов [7]. Количество цитохрома P-450 в микросомах измеряли спектрофотометрически [8]. Индуцированные димедролом спектральные изменения в микросомах и значение кажущейся спектральной константы диссоциации /K_д/ комплекса цитохром P-450-димедрол определяли в зависимости амплитуды спектральных изменений /ΔD₃₈₅₋₄₂₀/ от концентрации димедрола [9]. Количество лигандов, связанных с цитохромом P-450 в микросомах из печени опытных и контрольных животных сравнивали методом "спаренных квет". Для этого уравненные по содержанию цитохрома P-450 сравниваемые суспензии микросом с концентрацией белка около 2 мг/мл разливали /по 0,2 мл/ в две пары спектрофотометрических квет /0,2 см/. Затем 4 кветы попарно /в каждой паре по одной с опытными и контрольными микросомами/ помещали в малое кветное отделение спектрофотометра "Спекорд М4С" /ГДР/ и через 5 минут регистрировали разностный спектр поглощения в области 350-500 нм. После этого содержимое пары квет, размещённых в канале измерения смешивали и через 5 минут снова регистрировали спектры поглощения. Все процедуры проводили при 20°C. Вывод о неравенстве содержания определённого типа лигандов в сравниваемых микросомах делали на основании появления после смешивания характерных спектральных изменений.

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ. При исследовании совместного действия димедрола и гексенала в экспериментах на животных было обнаружено значительное увеличение /с 20,6 ± 2,7 до 61,0 ± 6,2 мин/ продолжительности гексеналового сна, что



подтверждает способность димедрола усиливать фармакологическую активность некоторых ксенобиотиков - субстратов цитохрома Р-450-зависимой системы микросомального окисления [1]. Изучение некоторых характеристик данной системы у животных, подвергнутых действию димедрола, показало почти пятикратное /с $0,036 \pm 0,001$ мм в контроле до $0,170 \pm 0,015$ мм в опыте/ увеличение K_M реакции О-деметилирования паранитроанизола в микросомальной фракции печени. При этом не наблюдали достоверных изменений значений v_{max} данной реакции /рис. 1/, а также содержания цитохрома Р-450, составлявшего в опытных и контрольных препаратах $0,72 \pm 0,05$ нмоль/мг белка.

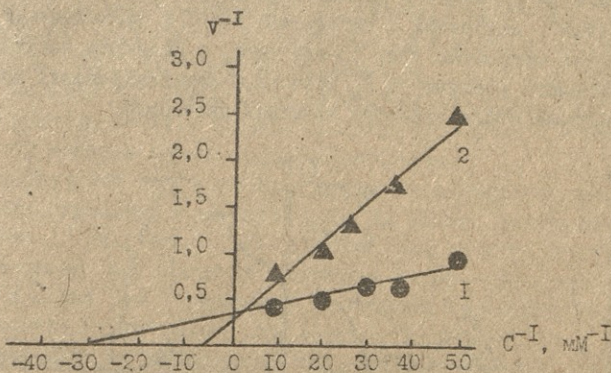


Рис. 1. Зависимость скорости О-деметилирования паранитроанизола от концентрации субстрата в микросомах печени контрольных /1/ и подвергнутых действию димедрола /30 мг/кг за 15 мин/ крыс /2/.

Помимо более высокого значения K_M реакции О-деметилирования паранитроанизола, микросомы, выделенные из печени животных после введения им димедрола, отличались от контрольных и по уровню лигандов, связанных с цитохромом Р-450. Этот эффект был установлен с помощью метода "спаренных навет". Показано, что при различии в уровне связанных с цитохромом Р-450 субстратов после смешивания микросом в результате перераспределения лигандов до нового равновесного

состояния системы цитохром Р-450-лиганд, а также нелинейности зависимости амплитуд индуцируемых при этом спектральных изменений от концентрации лигандов, индуцируются характерные для соответствующих типов субстратов спектры поглощения [10]. На рис. 2А приведены разностные оптические спектры поглощения препаратов из печени контрольных и подвергнутых действию диметрала крыс до /1/ и после /2/ смешивания. Появление после смешивания спектральных изменений с максимумом поглощения при 394 нм и минимумом при 419 нм указывает на различие в количестве так называемых "субстратов I типа", связанных с цитохромом Р-450 в сравниваемых препаратах микросом, что, по-видимому, и является причиной обнаруженного увеличения K_M реакции O-деметилирования паранитроанизола после введения животным диметрала.

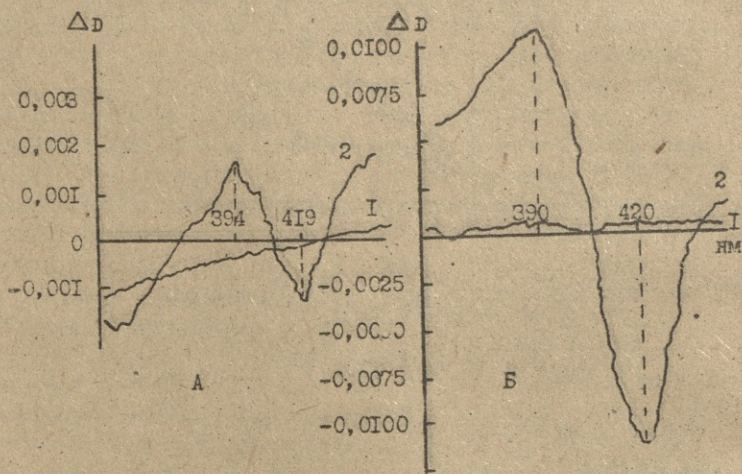


Рис. 2. Дифференциальные спектры поглощения, полученные:
 А - до /1/ и после /2/ смешивания препаратов микросом из печени контрольных и опытных животных;
 Б - до /1/ и после /2/ добавления диметрала /0,3 мМ/ к препаратам микросом из печени контрольных животных.



Для выяснения характера участия /прямого или опосредованного/ димедрола в обнаруженных эффектах было изучено взаимодействие препарата с цитохромом P-450 и системой микросомального окисления в эксперименте *in vitro*. Установлено, что димедрол, подобно субстратам I типа [10], индуцирует, при добавлении к суспензии микросом изменения с максимумом при 385-390 нм и минимумом при 420 нм на дифференциальном оптическом спектре поглощения "микросомы-димедрол - микросомы" /рис. 2Б/. Значение кажущейся спектральной константы диссоциации, K_s /комплекса "цитохром P-450 - димедрол" составило $0,0032 \pm 0,0009$ мМ. Эта величина сопоставима с K_s / $0,0005$ мМ/ [11] одного из наиболее эффективных ингибиторов активности данного гемопroteида SKF-525A и на 1-2 порядка ниже значений K_s большинства субстратов цитохрома P-450, что свидетельствует о высоком родстве димедрола к ключевому ферменту системы микросомального окисления.

При изучении взаимодействия димедрола с системой микросомального окисления в экспериментах *in vitro* было обнаружено, что: I/ инкубация с препаратом в концентрации, сравнимой со значением K_s комплекса "цитохром P-450 - димедрол" приводит к более чем 2-кратному увеличению K_M реакции O-деметилирования паранитроанизола, не влияя на значение V_{max} , что указывает на конкурентный тип ингибирования исследуемой реакции /рис. 3/;

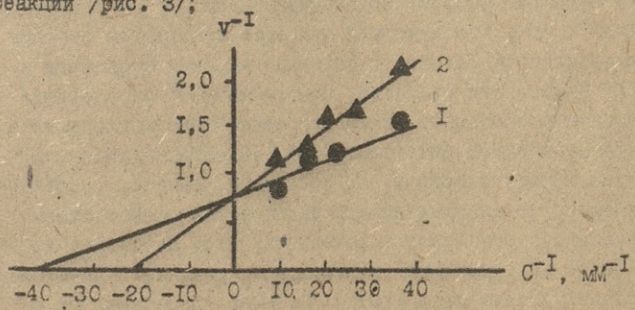


Рис. 3. Влияние димедрола / 10^{-5} М/ на O-деметилирование паранитроанизола в микросомах печени крыс. I - контроль, 2 - опыт.

06.10.57-40
202-2010133

2/ димедрол в присутствии НАДФН деметируется в микросомальной фракции с образованием формальдегида в качестве одного из продуктов реакции. Значения K_M и $V_{\text{макс}}$ реакции окисления димедрола микросомами /рис. 4/, определённые по зависимости скорости образования формальдегида от концентрации препарата /в двойных обратных координатах/, составили соответственно $0,037 \pm 0,02 \text{ мМ}$ и $5,9 \pm 0,3 \text{ нмоль/мг белка/мин}$.

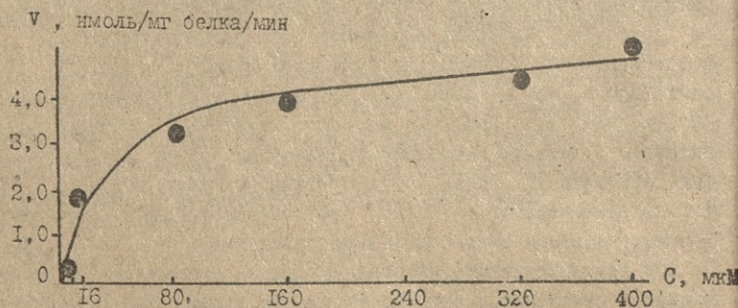


Рис. 4. Зависимость скорости / V / образования формальдегида от концентрации / C / димедрола при его деметилировании в микросомальной фракции печени крыс.

Таким образом, результаты экспериментов *in vitro* свидетельствуют о том, что димедрол является субстратом системы микросомального окисления, обладающим высоким сродством к цитохрому P-450. Эти свойства, по-видимому, определяют обнаруженную способность димедрола эффективно ингибировать окисление субстратов цитохрома P-450 эндоплазматического ретикулума печени животных. Не исключены, однако, опосредованные механизмы влияния димедрола на активность системы микросомального окисления в печени, на что, в частности, указывает более значительное увеличение K_M реакции O-деметилирования паранитроанисола в опытах *in vivo* по сравнению с действием препарата в сопоставимых концентрациях / *in vitro* / . Полученные в настоящей работе данные могут представлять интерес для направленного поиска фармакологических средств регуляции и управления процессами метаболизма ксенобиотиков.

ЛИТЕРАТУРА

1. Poling A., Sewell R., and et al., *Pharmacol. Biochem. and Behav.*, 1985, 22, 2, 333-335.
2. Карузина И.И., Бачманова Г.И., Кузнецова Г.П. и др. *Биохимия*, 1979, 44, 10, 1796-1804.
3. Yam K., Du Bois K.P., *Radiation Res.*, 1967, 31, 1, 315-32 .
4. Карузина И.И., Арчаков А.И. В кн.: *Современные методы в биохимии*. Под ред. Ореховича Б.Н. М., Медицина, 1977 49-62.
5. Schacterle G.R., Pollack R.L. *Anal. Biochem.*, 1973, 51, 2, 654-655
6. Nash T. *Biochem J.*, 1953, 55, 3, 416-421.
7. Глогов Н.В. *Биометрия*. М., 1982, 199-202.
8. Shoene B., Fleishmann R.A., Remmer H. *Eur. J. Clin. Pharmacol.*, 1972, 4, 2, 65-73.
9. Shenkman T.B., Remmer H., Esterbrook R.W. *Mol. Pharmacol.*, 1967, 3, 113-123.
10. Василенко О.В. Механизм послерадиационного повреждения системы микросомальных цитохромов P-450 печени млекопитающих. Автореферат канд. дисс., М., 1983.
- II. Арчаков А.И. Микросомальное окисление. Л., 1975.

КЛЕТОЧНЫЙ СТРЕСС, СТРЕССОВЫЕ БЕЛКИ И УСТОЙЧИВОСТЬ ЖИВЫХ СИСТЕМ

В.А.Барабой

Киевский НИИ онкологии

Представление об общем синдроме адаптации (стресс) было развито Г.Селье (1936, 1950) применительно главным образом к высокоорганизованным живым системам (млекопитающие, человек) и рассматривалось как неспецифический компонент физиологических реакций напряжения и разнообразных патологических процессов. Включение так называемых стресс-реализующих систем (симпато-адреномедулярной и гипофизо-кортикоадренальной) сопровождается гипертрофией коры надпочечников, инволюцией тимико-лимфатической системы и возникновением язвенных повреждений слизистой желудка (триада Селье). Ранее нами развито представление о продуктах перекисного окисления липидов (ПОЛ) как "первичном медиаторе" стресса, существование которого постулировалось Г.Селье / 2 /.

Можно предполагать, что синдром адаптации, аналогичный стрессу, представляет собой феномен общебиологический, т.е. присущ и более простым живым системам, начиная с клеток. Первое упоминание о существовании клеточного стресса может быть связано с работами Д.И.Насонова и В.Я.Александрова (1941, 1962), которые описали неспецифическую реакцию перераспределения витального красителя в клетках, подвергшихся разнообразным воздействиям (паранекроз). В 1964 г. З.М.Бак и П.Александр выдвинули представление о "биохимическом шоке" как реакции клеток на воздействие ионизирующей радиации и введение радиопротекторов (З.Бак, 1968). Согласно их описанию, при развитии биохимического шока прекращается продвижение клеток по циклу, развивается набухание митохондрий, просветление их матрикса, частичное разрушение крист. Весьма существенно, что предварительное введение протекторов не только не ослабляет развитие этой реакции на последующее облучение, но обуславливает ее развитие еще до облучения, что тем не менее способствует повышению устойчивости клетки к летальному действию радиации. Таким образом, есть все основания рассматривать это явление как защитную по своей природе, как адаптивную реакцию. Однако при сверхсильном повреждении реакция биохимического шока углубляется настолько, что становится необратимой и завершается гибелью клетки. Аналогичная последовательность событий описана для



лучевого и иного стресса на уровне организма.

Анализ механизмов клеточного стресса как наиболее древней и общей адаптивной реакции живых систем, обеспечивавшей их устойчивость в неблагоприятных условиях среды, представляет колоссальный интерес. Работы последних десятилетий обнаружили, что наряду с системой внутриклеточной ферментативной репарации, обеспечивавшей защиту генома от генотоксических воздействий, существует еще одна общая адаптивная реакция - переключения генома на продукцию особых стрессовых белков, повышающих устойчивость клеток к разнообразным, прежде всего термически неблагоприятным воздействиям.

В 1962 г. F. Ritossa /12/ показал, что при резком подъеме температуры с 25° до $33-35^{\circ}\text{C}$ происходит изменение пуффинга полигенных хромосом слюнных желез дрозофилы. При этом ранее активные пуффы исчезают, но появляются новые, вырабатывающие новые виды информационной РНК. Описанное явление получило название "теплого шока". Самое существенное состоит в том, что под влиянием резкого подъема температуры (по сравнению с оптимальными температурными условиями) репрессированная функция многочисленных генов, функционирующих в условиях обычной жизнедеятельности; зато ранее неактивные гены активируются. То обстоятельство, что в экстремальных условиях ингибируется большинство внутриклеточных физиологических процессов и что в основе этого торможения лежит приостановка продукции соответствующих белков, особых сомнений не вызвало, так как факт перестройки клеточного метаболизма в стрессовых ситуациях был более или менее известен. Внимание исследователей привлек факт активации экспрессии ранее неактивных генов, выявленный наглядно благодаря уникальным возможностям, открываемым работой с гигантскими хромосомами слюнных желез дрозофилы / 3 /.

Дальнейшие исследования показали, что изменения экспрессии генов в ответ на тепловой шок наблюдаются у всех исследованных организмов - от бактерии до человека. Единственное пока известное исключение - прорастающие пыльцевые трубки традесканции, где синтез белков теплового шока не обнаружен. Таким образом, изменение экспрессии генов в ответ на тепловой шок - универсальная реакция. Экспрессия ранее неактивных генов обуславливает синтез соответствующих иРНК и трансляцию определенных, типичных для теплового шока белков (БШ). Обычно клеточный ответ на тепловой шок регистрируется именно по появлению БШ.



Синтез БШ на фоне более или менее полного ингибирования синтеза других клеточных белков наблюдается не только при экстремальном воздействии высоких температур. Толчком для запуска этой стереотипной реакции являются, как надежно установлено, также холодовый шок, обезвоживание, механическая травма (раневой шок), реоксигенация после гипоксии, воздействие этанола, колхицина, динитрофенола, олигомицина, ротенона, переходных металлов и тиоловых реагентов, вирусной инфекции и т.п. Таким образом, здесь мы имеем дело с реакцией универсальной, развивающейся, с одной стороны, у всех организмов, с другой стороны, на разнообразные стресс-воздействия. Поэтому точнее говорить не о реакции на тепловой шок и не о белках теплового шока, а о клеточном стрессе и стрессовых белках (СБ).

Каков биологический смысл этой реакции генома, завершающейся синтезом СБ? Сейчас практически все исследователи пришли к однозначному выводу о том, что синтез БШ повышает устойчивость клеток к тепловому шоку, индуцирует состояние термотолерантности (ТТ). Применительно к другим экстремальным воздействиям также более или менее доказано, что синтез БШ (СБ) повышает устойчивость и к ним. Таким образом, синтез СБ можно рассматривать как стереотипную адаптивную реакцию, обеспечивающую временное повышение устойчивости клеток к разнообразным неблагоприятным воздействиям. Эта адаптация достигается за счет перестройки генома и временного переключения белкового биосинтеза на продукцию СБ, в ущерб синтезу большинства других, необходимых для нормальной жизнедеятельности белков.

Установление этого кардинального факта несомненно весьма важно, но ставит и ряд новых вопросов. Наиболее важные из них: 1. Как организована и реализуется эта стрессовая реакция? 2. Каков механизм повышения устойчивости клетки стрессовыми белками? 3. Каково место этой реакции среди известных адаптивных механизмов и взаимосвязь между ними? Полного ответа на эти вопросы еще нет, но определенные сведения имеются.

1. Пуффы, ответственные за синтез БШ, активируются уже через 1-2 минуты после начала теплового шока; максимум их активности приходится на срок 20-30 минут воздействия повышенной температуры. Регрессия пуффов наблюдается через 50-60 минут, даже если тепловое воздействие продолжается. Такая особенность реакции объяснима: жизнедеятельность клетки невозможна без синтеза



белков нормального метаболизма, его прекращение возможно лишь на относительно короткое время. С другой стороны, иРНК, нарабатанные за время активации стрессовых пуффов, реализуют синтез СБ и в более отдаленные сроки после начала теплового шока, по-видимому, в течение 4 часов. Эти иРНК могут в готовом виде передаваться яйцеклеткам дрозофилы, морского ежа, лягушки и т.п. и обеспечивать синтез СБ на тех ранних стадиях эмбриогенеза, когда реакция стрессового пуффинга еще не запущена. Синтез СБ возможен и безъядерными фрагментами клетки - при наличии в них специфических иРНК.

У разных видов дрозофилы при тепловом шоке возникает 5-9 пуффов, у других видов животных их количество аналогично. Эти белки имеют молекулярную массу 16-19, 22-27, 68-70, 85-95 кД. По своей массе, составу они несколько различаются у разных организмов, а у одного вида на разные стресс-воздействия экспрессируется несколько различных наборов СБ. И все же эта группа белков имеет кардинальную общность - структурную, функциональную, физиологическую. Все это кислые белки, их изоэлектрическая точка (в присутствии мочевины) лежит в области рН 5,5-6,5 / 1 /. СБ - белки весьма консервативные: они присутствуют мало изменяясь, на всех уровнях организации живого / 7 /. Нуклеотидные последовательности генов БПШ 70 кД из клеток дрозофилы и человека гомологичны на 73% / 10 /. Очевидно, эти белки, обеспечивавшие адаптацию к вредным влияниям, возникли очень давно и в основном сохранили свою структуру и функцию.

Синтезируясь в цитоплазме, СБ (БПШ-70) очень быстро переносятся в ядро, концентрируются в ядрышке и возвращаются в цитоплазму после окончания термического воздействия / 13 /. Цитоплазматические БПШ концентрируются главным образом вблизи мембран. В момент максимальной концентрации СБ в ядре на их долю приходится до 45% всех гистоновых белков (кроме Н1). Таким образом, первое предположение относительно физиологической роли СБ связано с защитой от стрессорных повреждений генома клетки. По другим предположениям, также имеющим некоторые экспериментальные подтверждения, первичной мишенью при воздействии стресс-агентов являются митохондрии, включаемые в индукцию генов БПШ. После воздействия теплового шока на изолированные митохондрии из них удается выделить недифференцируемые



фактор, индуцирующий пуффинг при введении в цитоплазму клеток слюнных желез дрозофилы. Цитоплазма без митохондрий в этих условиях не индуцировала гены БПШ / 14 /. Согласно этому представлению, мишенью действия высокой температуры и других стресс-воздействий являются митохондрии, система электронного транспорта в них и процесс окислительного фосфорилирования; синтез БПШ - ответ на это воздействие / 11 /. По-видимому, митохондриальный фактор, индуцирующий синтез БПШ, имеет белковую природу и не является АТФ, АДФ или АМФ / 9 /.

Вопрос о медиаторах, запускающих реакцию синтеза БПШ, на сегодняшний день не может считаться решенным.

2. Каким образом стрессовые белки повышают устойчивость клеток к экстремальным воздействиям, в настоящее время неясно. По-видимому, присутствие БПШ может оказывать защитное действие на клеточные (ядерные, мембранные) структуры от деструктивного действия протеаз. В частности, можно думать о таком защитном действии по отношению к хроматину ядра, а также к структуре митохондрий и ферментов / 8 /.

Образование БПШ-70 отмечено при самых разнообразных стрессовых воздействиях, тогда как синтез других СБ более специфичен для различных стресс-воздействий. Установлено также существование гена, активация которого развивается при воздействии высокой температуры и других экстремальных агентов, но при этом не удается зарегистрировать синтез какого-либо специфичного для этого гена белка. Природа продукта экспрессии этого гена остается неизвестной, хотя и интенсивно изучается / 4 /.

В обзоре Е. Р. Лозовской, М. В. Евгеньева, 1984 / 7 / упоминается около 25 агентов, обуславливающих развитие реакции синтеза БПШ, в том числе ингибиторов окислительного фосфорилирования и электронного транспорта.

3. Наряду с системой синтеза СБ каждая клетка вооружена еще рядом общих систем защиты от внешних неблагоприятных воздействий. Система внутриклеточной репарации ДНК обеспечивает устранение возникших при экстремальных генотоксических воздействиях повреждений генетического аппарата клеток. Ферментативные системы фотореактивации и эксцизионной репарации устраняют возникающие одиночные и двойные разрывы цепей ДНК, повреждения азотистых оснований, сшивки ДНК-ДНК, ДНК-белок, восстанавливая к мо-



менту митоза нативную структуру ДНК. Система микросомальных монооксигеназ осуществляет детоксикацию ксенобиотиков, устраняя опасность их токсического, в том числе и мутагенного, воздействия на клетки. Наконец, антиоксидантная система, прежде всего АО-ферменты суг. роксиддисмутаза (СОД), каталаза, пероксидазы, а также церулоплазмин, трансферрин, осуществляет защиту от токсического действия кислорода и в особенности активных его форм / 5 /.

Система синтеза ШИ - быть может, самая древняя и наиболее универсальная из защитных адаптивных систем клетки. Вопрос о взаимодействии перечисленных защитных систем весьма актуален и непосредственно связан с вопросом о механизме их включения, активации. Трудно представить себе, что каждая из этих систем функционирует независимо и имеет самостоятельные системы запуска. Более вероятным кажется предположение, что все или некоторые из этих систем имеют общие механизмы активации. Особый интерес с нашей точки зрения представляет взаимосвязь между функцией АО-системы и системы стрессовых белков. По некоторым представлениям, стрессовые белки способны защищать клеточные структуры от ПОЛ, выступая в качестве ловушек для продуктов ПОЛ (однако экспериментальными основаниями для такого предположения авторы / 6 / не располагают).

Наши предварительные экспериментальные данные позволяют предполагать, что повышение концентрации активных форм кислорода - продуктов ПОЛ, свободных радикалов и перекисей, - развивающееся при разнообразных стресс-воздействиях, является сигналом для запуска, наряду с АО-системой, также системы СБ. Поэтому профилактическое введение антиоксидантов (инола), обеспечивающее ингибирование реакций ПОЛ, образование активных форм кислорода, ослабляет продукцию СБ в условиях иммобилизационного, лучевого и ожогового стресса / В.А. Барабой, Д.А. Сутковой, 1990 /.

Представляет значительный интерес изучение влияния такого стресс-воздействия, как ионизирующая радиация, а также радиопротекторов на систему синтеза СБ (как и на АО-систему). Весьма вероятно, что этот механизм, наряду с другими, играет существенную роль в защите клеток, организмов от поражающего действия ионизирующей радиации. Анализ этих механизмов является предметом наших исследований.

ЛИТЕРАТУРА

1. Айтхожин М.А., Бельгибаев С.А., Токарев А.А. Регуляция синтеза стрессовых белков на ранних стадиях прорастания семян // Стрессовые белки растений.-Новосибирск, Наука.-1989.-, С.20-43.
2. Барабой В.А. Роль перекисного окисления в механизме стресса. // Физиол. журнал АН УССР.-1989 -35, 5.-С.85-97.
3. Барабой В.А., Гресс В.Э. Стрессовые белки: природа и биологическая роль у млекопитающих. // Актуальн. проблемы медицины и биологии.-Киев, Киевский мед. и-т.-1988.-2.-С.420-432.
4. Губенко И.С. "Необычные" локусы генома дрозофилы, активируемые при тепловом шоке и других условиях стресса. // Биополимеры и клетка.-1989.-5, 3.-С.5-22.
5. Дианова И.И., Салгагик Р.И. Индуцированный синтез белков теплового шока пшеницы и их роль в адаптации к действию высоких температур. // Стрессовые белки растений.-Новосибирск, Наука.-1989.-С.43-58.
6. Константинов Ю.М., Луценко Т.Н., Подсобонный В.А., Зыкова В.В. Исследование перекисного окисления липидов в растительных митохондриях в связи с проблемой температурного стресса. // Там же.-С.88-113.
7. Лозавская Е.Р., Евгеньев М.Б. Тепловой шок у дрозофилы и регуляция активности генома. // Итоги нау. и техники. Молек. биология, т.20.-ВИНИТИ, М., 1984.-С.142-185.
8. Ashburner M., Bonner J.J. The induction of gene activity in *Drosophila* by heat shock. // Cell, 1979 -17,-P.241-254.
9. Craine B.L., Kornberg T. Activation of the major *Drosophila* heat shock genes in vitro. // Cell, 1981.-25,3.-P.671-681.
10. Hunt C., Morimoto R.J. Conserved features of eucaryotes hsp70 genes revealed by comparison with the nucleotide sequence of human hsp70. // Proc.Nat.Acad.Sci.USA, 1985.-82.-P.6455-6459.
11. Leenders H.J., Berendes H.D., Helmsing P.J. e. a. Nuclear-mitochondrial interactions in control of mitochondrial respiratory metabolism // Sub-Cell. Biochem., 1974.-3,2,-P.119-147.
12. Ritossa F. A new puffing pattern induced by heat shock in DNA in *Drosophila*. // Experientia, 1962.-18,5.-P.71-73.

13. Schlesinger M.J. Heat shock proteins: the search for function.//*J.Cell.Biol.*,1986.-103,-P321-325.
14. Sin Y.T. Induction of puffs in *Drosophila* salivary gland cells by mitochondrial factor.//*Nature*,1975.-258, 5531.- P.159-160.



В. А. Барабой

Киевский НИИ онкологии

Проблема злокачественных новообразований, их происхождения (канцерогенез), биологических особенностей, причины их инвазивности, механизмы взаимодействия с организмом, причины и механизмы их устойчивости к воздействию лечебных факторов — представляет собой в совокупности сложнейшую, быть может, самую сложную из проблем биологии и медицины; ее решение связано с такими кардинальными проблемами науки, как наследственность и изменчивость, организм и среда, старение, метаболизм и его регуляция и т.п.

Опухоль является неотъемлемой частью организма, вне организма опухоленосителя она не существует. Клетки опухоли — это не нечто чужеродное для организма, это собственные изменившиеся, трансформированные клетки организма, приобретшие некоторые новые свойства. Опухоль постоянно тысячами нитей и процессов связана с микроорганизмом, она питается за его счет и воздействует на него (Р. Е. Кавецкий, 1964, 1977).

С другой стороны, опухоль обладает определенной степенью автономности, выходит из-под контроля регуляторных систем организма (и тем более автономна, чем более злокачественна) и пролиферирует вопреки интересам организма, приводя в конечном счете к гибели его, погибая при этом и сама. Таким образом, имеют место сложнейшие взаимоотношения, включающие взаимодействие, антагонизм и само(взаимо)уничтожение. Тем не менее, то обстоятельство, что злокачественная опухоль растет и развивается за счет организма и рано или поздно приводит его к гибели, говорит об относительно большей устойчивости опухоли как биологической системы по сравнению с организмом. Именно эта особенность опухоли как биосистемы является предметом рассмотрения в этой работе.

Само возникновение трансформированной клетки, а затем формирование пролиферирующего атипичного клеточного клона является следствием, проявлением известной относительной неустойчивости (не абсолютной устойчивости) генома, некоторой ненадежности функции детоксицирующей и иммунной систем клеток и организма. Появление способности клетки к бесконтрольному размножению, ее по-



тенциальное бессмертие, инвазивность, атипия — являются следствием определенной перестройки, повреждения генетического механизма клетки, т.е. в сущности результатом некоей "раковой мутации", точнее, многоэтапного процесса злокачественной трансформации — канцерогенеза. Не касаясь пока конкретной природы мутаций и хромосомных перестроек, лежащих в основе злокачественной трансформации, отметим, что частота естественного мутирования гена составляет или близка к 10^{-7} , иными словами, в многоклеточном организме постоянно возникают мутантные клетки и, таким образом, существует почва для возникновения трансформированных, а значит, и раковых клеток. Естественный мутационный процесс — один из источников изменчивости клеток и организмов, в том числе и канцерогенеза. Под влиянием антропогенной природы канцерогенных агентов этот естественный процесс может существенно ускориться. Микроэволюция, в основе которой лежит мутационный процесс, является движущей силой биологической макроэволюции. На уровне же организма появление атипичных (трансформированных) клеток служит отправной точкой для длительного процесса — своеобразного естественного отбора на клеточном уровне — процесса селекции клонов /II /.

Из числа возникших многочисленных мутантных клеток значительная часть погибает — в силу генетической неполноценности либо как следствие функционирования системы иммунного надзора. Среди сохранившихся жизнеспособность мутантных клеток преимущественно в конкурентной борьбе имеют те, которые обладают большей пролиферативной потенцией, менее прихотливы, более способны переносить недостаток кислорода и питательных веществ — более устойчивы. Более того, в процессе селекции клеточных клонов имеют место и процессы дальнейшего мутирования в результате определенной нестабильности генома, возникшей после первой мутации. В конечном итоге длительного многоэтапного процесса возникает клеточный клон, способный к ускоренной пролиферации и более или менее независимый от нейрогуморальных управляющих стимулов организма, "глухой" команда организма.

Итак, исходным стимулом этого процесса, ведущего к появлению в организме более устойчивой системы (или подсистемы) — опухоли, является естественный мутационный процесс, стимулируемый дополнительными, главным образом антропогенными по своей природе канцерогенными стимулами. Как естественный, так и индуцированный канцерогенез (мутагенез), при наличии опре-



деленных частных различий, обусловлен воздействием на живые организмы одних и тех же (или аналогичных) внешних агентов: физических (ионизирующее и ультрафиолетовое излучение, повышенная температура), химических (полициклические ароматические углеводороды, нитрозоамины, канцерогенные металлы и т.п., а также некоторые метаболиты) и биологических (онкогенные вирусы). Что касается последних, то, по современным представлениям, их роль второстепенна и производна; онкогенность не является качеством эволюционно-оправданным, не способствует выживанию и эволюционированию его носителей-вирусов.

Химический мутагенез, играющий видимо наиболее существенную роль, представляет собой сложный многоэтапный процесс. На первом этапе проникший в клетку мутаген (канцероген) подвергается атаке многоцелевых оксигеназ эндоплазматического ретикула. Этот полиферментный комплекс осуществляет инактивацию и окислительную деструкцию разнообразных чужеродных веществ - ксенобиотиков. Так, полициклические ароматические углеводороды (ПАУ) функцией микросомальных монооксигеназ гидроксилируются и превращаются в фенольные и оксиароматические соединения, значительно менее токсичные, более гидрофильные и легче удаляемые из организма. Этот универсальный процесс детоксикации ксенобиотиков, однако, не абсолютно надежен: в ряде случаев имеет место процесс по своей биологической сущности противоположный: образующиеся продукты еще более токсичны и канцерогенны, чем исходные (ПАУ или нитрозоамины). Этот процесс получил название метаболической активации; подавляющее большинство химических канцерогенов его проходят. Таким образом, канцерогенез может рассматриваться как следствие недостаточной, не абсолютной надежности функционирования системы детоксикации ксенобиотиков, в частности, потенциальных канцерогенов, извращения этой функции, превращения ее в свою противоположность /16, 17, 19 /.

Определенную роль этот механизм, по-видимому, играет и при радиационном канцерогенезе, в котором роль химических канцерогенов, подвергающихся метаболической активации, могут играть аномальные метаболиты, образующиеся под влиянием облучения. Активация окислительных процессов, характерная для воздействия ионизирующей и ультрафиолетовой радиации, сопровождается появлением липидных и хиноидных "радиотоксинов" - продуктов окисления ненасыщенных жирных кислот и фенольных соединений.



Образующиеся в итоге активные формы кислорода (окислительные радикалы, перекиси, эпоксиды, альдегиды, кетоны, а также хиноны) обладают мутагенной и канцерогенной активностью [8, 9]. Таким образом, и при воздействии физических канцерогенов имеет место своеобразная метаболическая активация — проявление опосредованного биологической системой внешнего воздействия. Это можно также рассматривать как следствие недостаточной устойчивости биологической системы к лучевому воздействию, даже если доза последнего сама по себе не является летальной. Аналогичные аномальные метаболиты, обладающие канцерогенной активностью, образуются и непосредственно в организме при эндокринно-обменных нарушениях и сдвигах [13], являющихся биохимической основой гормонального канцерогенеза.

Можно утверждать, таким образом, что трансформация клеток как первый этап канцерогенеза возникает как следствие недостаточной надежности системы детоксикации ксенобиотиков и не абсолютной стабильности клеточного генома, его мутабельности.

Какова же природа перестроек клеточного генома, развивающихся на первом этапе канцерогенеза? Онкология прошла длинный путь в расшифровке генетической сущности канцерогенной трансформации клетки — от полиэтиологической теории, констатирующей реальность различных механизмов канцерогенеза, через вирус-генетическую теорию (Л. Зильбер), придававшую решающую специфическую роль онкогенному вирусу как источнику раковой информации, к современным представлениям о роли онкогенов и иммуногенетических механизмов.

В отличие от вирус-генетической теории теория онтогенеза исходит из представления о том, что так называемая раковая информация (способность клетки к бесконтрольному размножению) не приносится в клетку извне специфическим вирусом, а содержится в нормальном клеточном геноме с самого начала. Способность к неограниченной пролиферации присуща клеткам эмбриона и постепенно угасает в онтогенезе по мере дифференциации клеток, тканей, органов и систем. Следовательно, гены, обуславливающие пролиферацию, характерны излучаются максимальной экспрессией на самых ранних стадиях онтогенеза и затем постепенно репрессируются. Они рассматриваются как протоонкогены, выполняющие нормальные физиологические функции. Их активация и экспрессия в клетках взрослого организма означает их превращение в онкогены,



а сама клетка приобретает, полностью или частично, свойства эмбриональной клетки /1,7/: откуда ее высокая пролиферативная способность, более или менее выраженная дедифференциация, омоложение и т.п.

Каковы же причины и механизмы активации протоонкогенов, их превращения в онкогены? Это могут быть генные мутации протоонкогенов, появление рядом с последними сильных промоторов - вирусных или собственных - в результате хромосомных aberrаций, а также внедрение в структуру протоонкогена или по соседству с ним лабильных элементов, так называемых "прыгающих генов" /1 /. Общее количество известных науке онкогенов превысило 20, установлена патогенетическая роль отдельных онкогенов в возникновении рака определенных органов у человека / 3,6 /. Канцерогены среды увеличивают частоту спонтанно возникающих соматических мутаций (маркерами которых служат aberrации хромосом) и тем самым повышают вероятность активации протоонкогенов и частоту возникающих опухолей /15 /. Эти соматические мутации являются, по-видимому, рецессивными /14/. Возможно, что "раковая" мутация представляет собой, по крайней мере иногда, делецию регуляторных генов, например, антионкогенов, продуцирующих репрессоры онкогенов.

Основные стадии химического канцерогенеза:

1. Инициация - включает индукцию мутаций и их стабилизацию, фиксирование при следующем цикле пролиферации, с превращением нормальных клеток в инициированные, способные к образованию очаговых пролифератов;

2. Промоция - образование из инициированных клеток очагов пролиферации под влиянием дополнительного митогенного стимула. Очаговые пролифераты имеют вид доброкачественных опухолей, но их нельзя относить к таковым (папилломам, аденомам и т.п.), ибо значительная часть их подвергается обратному развитию, возвращаясь на путь нормальной дифференцировки.

3. Прогрессия - в результате новой соматической мутации и селекции клонов возникают раковые клетки, способные к агрессивному росту /12 /.

Обширный фактический материал подтверждает представление о мутационной природе канцерогенеза: клonalная природа опухоли; высокая вероятность возникновения рака у лиц с генетическими дефектами, нестабильностью генома, способность хими-



ческих канцерогенов взаимодействовать с ДНК, вызывать повреждение ее структуры и угнетать ее репарации; высокая корреляция мутагенной и канцерогенной активности химических агентов, а также излучений / 5, 10, 14 /.

Возникновение зачатка опухоли и последующая опухолевая прогрессия создают принципиально различные условия по периферии и в центре опухоли. Развитие сосудистой сети опухоли обычно отстает от увеличения массы последней, образующиеся сосуды дефектны; это создает в центре опухоли условия нарастающей гипоксии, недостатка питательных веществ; в то же время периферия опухоли обильно васкуляризована и находится в условиях оптимального снабжения ресурсами. Соответственно обычно имеет место периферический рост опухоли, а в ее центре создается глубокая гипоксия; переживающие клетки опухоли выходят из клеточного цикла; со временем формируются очаги центрального некроза.

Современная медицина располагает мощными методами и средствами, позволяющими полностью уничтожить наиболее устойчивые опухоли человека. Однако реальные успехи в противоопухолевой борьбе достаточно скромны. Это объясняется серьезными ограничениями, налагаемыми наличием и существованием опухоли в организме хозяина - в макроорганизме. Любое противоопухолевое воздействие не должно приносить неприемлемый вред больному. Иными словами, основная проблема лечения злокачественных новообразований - это проблема избирательности воздействия. Близость опухолевой клетки к нормальным столь велика, что сохранить окружающие нормальные ткани при полной деструкции опухоли - задача весьма сложная и в полном объеме не решенная по сей день.

Таким образом, фундаментом устойчивости опухоли как биологической системы является именно то, что она представляет собой автономную систему в рамках организма, что ее клетки минимально отличны от клеток организма. В сущности, опухоль и организм - это противоречие в рамках единства. Однако опухоль располагает еще рядом особенностей, создающих более высокую ее устойчивость, по сравнению с нормальными тканями.

Прежде всего, это гетерогенность опухоли - структурная, функциональная, дифференциальная; это многократное резервирование восстановительных и репопуляционных механизмов.



1. Гетерогенность генетическая - обусловлена ~~высокой кардио~~ типической вариабильностью опухолевой ткани. Кариотипические нормальных опухолей человека, по-видимому, вообще не существует; в каждой опухоли обычно есть 1-2 доминирующих линии по хромосомному составу, но наряду с ними присутствуют и клетки, отличающиеся по набору хромосом: анеуплоидные, гетероплоидные, полиплоидные. Основная масса хромосомных вариаций возникает вторично. Однако их существование чрезвычайно усложняет борьбу с раком: даже если с помощью лучевой или химиотерапии удастся повредить и разрушить 99,99% клеточной массы опухоли, остаток может обусловить возникновение рецидива. Хромосомный состав клеток рецидивной опухоли отличается от первичной, что свидетельствует о наличии в ее составе генетически устойчивой к терапевтическому воздействию фракции клеток, дающей рецидив. Таким образом, генетическая гетерогенность - фактор устойчивости опухолей /4,18/.

2. Гетерогенность физиологическая - обусловлена различием условий в центре и по периферии опухоли. Клетки опухоли, находящиеся в условиях гипоксии, существенно более устойчивы к большинству противоопухолевых агентов; после гибели основной массы клеток опухоли (под влиянием лучевой или химиотерапии) гипоксическая фракция их оказывается в условиях несравненно лучшей доставки кислорода и питательных веществ, вступает в митоз и обуславливает быструю репопуляцию опухоли /20 /.

3. Гетерогенность биохимическая - связана со способностью клеток опухоли избирательно накапливать антиоксиданты (токоферолы, каротиноиды, фенолы). Количество продуктов перекисного окисления в опухоли снижается до минимума, а они тормозят митоз; поэтому избыток антиоксидантов способствует опухолевой пролиферации. С другой стороны, антиоксидантный голод, испытываемый здоровыми тканями, делает их менее устойчивыми к опухолевой инвазии.

4. Гетерогенность цитологическая - состоит в том, что в массе опухоли обычно присутствует фракция клеток вне цикла, могущая также служить резервом репопуляции благодаря своей относительно высокой радиорезистентности. Далее, гетерогенность популяции клеток опухоли состоит в том, что в каждый данный момент они находятся в разных фазах клеточного цикла, обладающих разной устойчивостью к повреждающим воздействиям. Поскольку дозы противоопухолевой терапии строго лимитированы

риском повреждения здоровых тканей, обычно не удается подвести к опухоли такую дозу, которая вызвала гибель всех, в том числе и наиболее устойчивых, клеток опухоли. В итоге за счет наличия перечисленных резервов репопуляции в большинстве случаев возникает рецидивы, устойчивость которых к повторным противоопухолевым воздействиям оказывается более высокой, а эффект лечения — более низким.

Наконец, устойчивость опухоли как биологической системы (или подсистемы) оказывается более высокой, чем организма-носителя, благодаря существованию механизмов метастазирования. Однако эта особенность опухолевого процесса заслуживает самостоятельного рассмотрения.

ЛИТЕРАТУРА

1. Дубинин Н.П. Генная теория злокачественного роста. // Успехи современной биологии. — 1984. — 97, 2. — С. 163—178.
2. Кавецкий Р.Е. Взаимодействие организма и опухоли. // Киев, Науков думка, 1977. — 234 с.
3. Князев П.Г., Плужникова Г.Ф., Федоров С.Н. и др. Выявление и характеристика онкогенов в карциномах желудка и молочной железы человека. // Тез. 5 Всес. биохим. съезда, т. 2. — М., Наука, 1985. — С. 272—273.
4. Погосьянц Е.Е. Хромосомная изменчивость и канцерогенез. // Вестник АМН СССР, 1973. — I. — С. 49—54.
5. Рапопорт И.А., Парно В.А., Левина Д.М. Причины корреляции между канцерогенной и мутагенной активностью. // Патол. Физ. ол. и эксп. терапия, — 1970. — 14, 2. — С. 23—28.
6. Татосян А.Г., Галецкий С.А., Киселева Н.П. и др. Анализ экспрессии онкогенов в опухолях человека. // Докл. АН СССР, 1983. — 272, 3. — С. 726—729.
7. Эренпрейс Я.Г. Опыт теоретического анализа процесса малигнизации. // Изв. АН ЛатвССР, 1983. — 7. — С. 79—89.
8. Biology of radiation carcinogenesis (Eds J.M. Yuhas, Tennant R.W., Regan J.D.). N.Y., Raven Press, 1976. — 380 pp.
9. Borg D.C. Report: Comparison of mechanisms of carcinogenesis by radiation and chemical agents. // Assess. Risk Low-Level Exposure Radiat. and Chem. Crit. Overview. — N.Y., 1985. — P. 41—42.
10. Chu E.H., Trotska J.F., Chang C.C. Mutational approaches to the study of carcinogenesis. // J. Toxicol. and Environ.

- Health.-1977.-2,6.-P.1317-1334.
11. Dux K. Biological aspects of chemical carcinogenesis.// Post.Microbiol., 1981.-20,1-2.-P.7-13.
 12. Farber E. Sequential events in chemical carcinogenesis. //Cancer: Compar.Treatise.-v.1. N.Y.-L., 1982.-P.485-506
 13. Greenstock C.L. The role of free radicals in radiation and chemical carcinogenesis.//Progr.React.Kinet., 1982.-11,2.-P.73-135.
 14. Hsu T.C. Genetic susceptibility to carcinogenesis.// Cancer Bull., 1980.-38,3,- P.125-128.
 15. Knudson A.G. Mutation and latency in carcinogenesis.// Life sci.Res.Rept., 1977.-7.-P.55-68.
 16. Miller J.A., Miller E.C. Chemical carcinogenesis: mechanisms and approaches to its control.//J.Nat.Cancer Inst 1971.-47,3.-P.5-14.
 17. Miller E.C., Miller J.A. The mutagenicity of chemical carcinogens: Correlations, problems, and interpretations //ChemMutagens, Principles and Meth., their Detect., v.1. -N.Y.-L., 1971.-P.83-119.
 18. Pathak S. Specific chromosomal anomalies in human cancer.// Cancer Bull., 1986.-38,3.-P.129-134.
 19. Serres F, J. de. Mutagenicity of chemical carcinogens. //Mutat.Res., 1977.-46,3.-P.190.
 20. Vaupel P. Hypoxia in neoplastic tissue.//Microvasc.Res. 1977.-13,3.-P.399-408.

МОЛЕКУЛЯРНО-ГЕНЕТИЧЕСКИЕ МЕХАНИЗМЫ ОБЕСПЕЧЕНИЯ НАДЕЖНОСТИ
ЭНЕРГОПРЕОБРАЗУЮЩИХ СИСТЕМ И КАНЦЕРОГЕНЕЗ



Береговская Н.Н.

Научно-инженерный центр автоматизированных биотехнических систем "Сонар" НТК Института кибернетики АН УССР, Киев

Существование живых организмов в сложной и динамической среде обитания возможно благодаря непрерывному процессу адаптации к меняющимся внешним условиям и внутренним факторам, т. е. активному процессу самоорганизации. Любой биологический вид /организм/ представляет структурно многоплановую саморегулирующуюся систему, состоящую из качественно неоднородных морфо-физиологических элементов.

Надежность биологической системы можно определить как способность к выполнению функций в изменяющихся условиях. Надежность как фундаментальное свойство биологической системы обеспечивается устойчивостью к экстремальным воздействиям элементов системы, основными из которых являются энергетическая система, генетические структуры, регуляторные механизмы.

На основе современных данных об энергетике, транспорте, уровне биосинтетических процессов и функциональной активности, системы, их обеспечивающие, можно рассматривать как относительно автономные с собственными путями регуляции и обратными связями.

Биоэнергетика является ведущим фактором регуляции внутриклеточных процессов жизнедеятельности и функциональной активности. Действие внешних факторов вызывает в ряду ответных реакций изменение уровня биоэнергетических процессов, связанных с реализацией всех функциональных, структурных и пластических перестроек применительно к новым условиям.

Решение вопроса о механизмах взаимосвязи энергетики, метаболизма и функции вряд ли может быть найдено путем накопления феноменологических фактов о корреляции сдвигов содержания или концентрации метаболических веществ при различных условиях. Для установления причин изменения надежности систем наиболее важно определение звеньев, лимитирующих их возможности, а также первичных /пусковых/ актов влияния на эти звенья, начальных событий, которые в итоге приводят к патологии.



Последовательность развивающихся в клетке под воздействием неблагоприятных факторов процессов можно представить следующим образом /13/: факторы окружающей среды \rightarrow метаболическая активация \rightarrow химически активные метаболиты \rightarrow реакция с клеточными макромолекулами и/или другими клеточными компонентами \rightarrow изменение биохимии клетки \rightarrow гибель клетки/или канцерогенез. Ключевая роль нарушений энергетического обмена наиболее очевидна на примере злокачественного роста, т.к. одним из самых характерных свойств опухолевых клеток является преимущественно гликолитический тип энергообеспечения - более примитивный эволюционно по сравнению с окислительным фосфорилированием.

В схеме соподчиненности в системе регуляции внутренних процессов организма митохондрии являются автономными, саморегулирующимися, самоорганизующимися, особо "жестко" генетически закодированными, и это единственная клеточная органелла, имеющая собственный автономный геном. В дыхательной цепи митохондрий идентифицировано около 40 компонентов, наиболее многочисленными являются негемовые железо-серусодержащие белки, которые входят в состав НАДН- и сукцинатдегидрогеназы, цепи β -окисления ненасыщенных жирных кислот /8/.

Целью исследований, результаты которых приведены ниже, было изучение железо-серных белков /ЖСБ/ при различных воздействиях, выяснение роли нарушения их состояния в аномалиях функционирования энергопреобразующих систем, и сделана попытка установления генетической обусловленности этих аномалий. Для решения поставленных вопросов методом низкотемпературной ЭПР-спектроскопии изучена кинетика состояния ЖСБ и свободных радикалов /СР/ при действии химических факторов различной природы и ионизирующей радиации; проанализированы имеющиеся данные по структуре митохондриального генома с точки зрения возможности кодирования на неидентифицированных участках репликация железо-серных белков и других компонентов дыхательной цепи; полученные экспериментальные результаты рассмотрены в связи с воздействием химических и радиационных воздействий на генетический аппарат митохондрий /1 - 4, 7/.

Эксперименты можно условно разделить на четыре группы:

I. Модели, наиболее адекватные натурным условиям: канцерогенез легких и желудка, индуцируемый интратрахеальным и перо-



ральным хроническим введением бенз/а/пирена, с учетом воздействия некоторых модифицирующих факторов окружающей среды /высокодисперсная угольная пыль, вещество фенольного ряда - орто-крезол; 2. Лабораторные модели: кадмий как модель токсического и канцерогенного металла; канцерогенез молочных желез, индуцированный ДМБА; 3. Моделирование различных физиологических состояний, для которых характерно существенное изменение метаболизма, связанного с энергообеспечением: регенерирующая печень; гипо- и гипертиреоз; гормонообусловленный опухолевый рост, вызванный нарушением гормонального баланса; 4. Радиационный канцерогенез при однократном тотальном облучении быстрыми нейтронами в дозах 0,6 и 1,0 Гр.

В процессе введения бенз/а/пирена, орто-крезола, их комбинированном воздействии наиболее существенно повышение содержания ЖСБ, наиболее устойчивое и длительное при введении канцерогена, с последующим снижением в период появления злокачественных опухолей. В опытной группе животных можно разделить по индивидуальной чувствительности, что может быть причиной различия развившихся впоследствии опухолей по длительности латентного периода, скорости роста, морфологической характеристике.

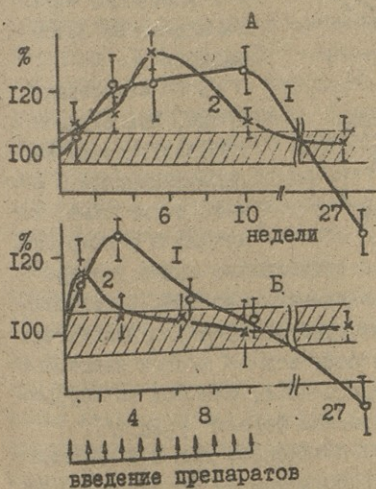


Рис.1. Содержание железо-серных белков /А/, свободных радикалов /Б/ при введении бенз/а/пирена /I/ и БП + орто-крезола /2/ в % к контролю. Стрелками указаны сроки введения препаратов.

Сопоставление этих данных с результатами гистоморфологических исследований приведено в таблице I.

При индукции опухолей легких содержание ЖСБ повышается после первого введения с последующим снижением на фоне повышенной концентрации свободных радикалов /рис.2/.

Таблица 1.

Концентрация железо-серных белков и свободных радикалов в печени через 27 недель от начала введения канцерогена

| Морфологическая характеристика патологических изменений в желудке | Интенсивность сигнала ЭПР, в % к контр. | |
|---|---|-----------------------|
| | Железо-серные белки | Свободные радикалы |
| Плоскоклеточный рак | 66 ± 4,3 [*] | 61 ± 6,8 [*] |
| Папилломы | 99 ± 1,4 | 100 ± 18,1 |
| Интактные жив. | 100 ± 3,8 | 100 ± 3,5 |

Обозначения: * p < 0,05

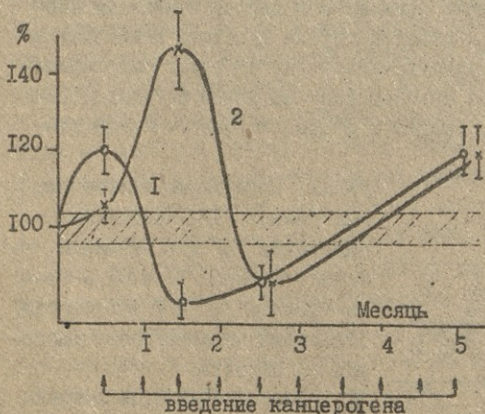


Рис.2. Содержание железо-серных белков/1/ и свободных радикалов /2/ в печени при индукции опухолей легочных бенз/а/пиреном в % к контролю. Стрелками указаны сроки введения.

В более поздние сроки, при сходной морфологической картине изменений в легочных, у животных, получавших канцероген,

содержание ЖСБ на 50% выше, затем существенно снижается при развитии злокачественных новообразований - до 60%. В контрольной группе не зарегистрировано ни одного случая возникновения опухолей. Аналогичные результаты получены на модели канцерогенеза молочных желез, индуцированного ДМБА, близкой по морфологическим характеристикам к клиническим формам /рис.3/.

Канцерогенное действие кадмия, показанное как в эпидемиологических исследованиях, так и в экспериментах на животных, на дыхательную цепь реализуется на уровне НАДН-зависимых дегидрогеназ. Это действие проявляется в необратимом снижении содержания железо-серных белков НАДН-дегидрогеназы /рис.4/.

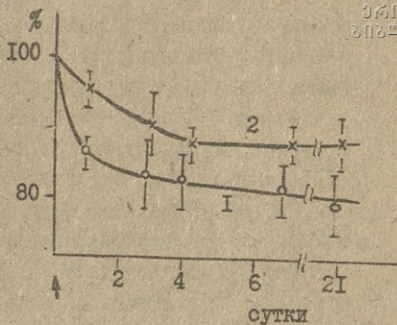
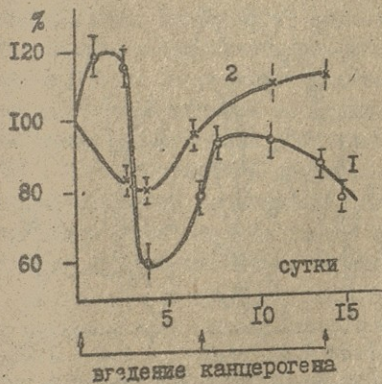


Рис. 3 и 4. Содержание железо-серных белков /1/ и свободных радикалов /2/ в печени

при индукции опухолей молочных желез ДМБА /рис.3/ и мышц /рис.4/ хлоридом кадмия.

При развитии опухоли из трансплантата яичника в селезенку /в условиях двусторонней овариэктомии/ под действием физиологических доз эндогенных гормонов, но с изменением нормальных ритмов их секреции, особенности процесса позволяют провести исследования в различные периоды: компенсаторного роста с преобладанием пролиферативных процессов /2 месяца/; опухолевой трансформации /3-9 месяцев/; период активного роста сформировавшихся доброкачественных опухолей, генерализованный опухолевый рост с метастазированием. В трансплантате на стадии компенсаторного роста повышено содержание ЖСБ и СР. Увеличение концентрации последних продолжается до 7-8 месяцев и достигает максимума в сформировавшейся опухоли./рис.5/. При опухолевой трансформации происходит необратимое снижение содержания ЖСБ. Эти данные хорошо согласуются с выводом о том, что в малигнизирующихся тканях на начальных стадиях роста опухолей максимум СР совпадает с максимальным уровнем аэробного гликолиза, а сами радикалы имеют иную, нежели в нормальных тканях, природу. Это позволяет предположить, что первичным актом является нарушение железс-серных центров НАДН-дегидрогеназы, мобилизация компенсаторных механизмов проявляется в активации процессов аэробного гликолиза, обеспечивающего энергетику живой клетки.

Канцерогенный эффект радиации наблюдался после однократно-

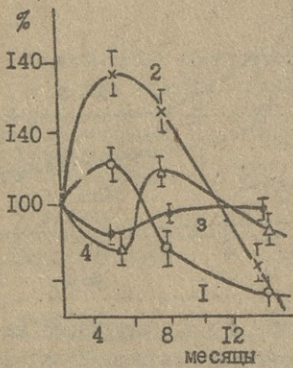


Рис.5. Содержание железо-серных белков /1,3/ и свободных радикалов /2,4/ в опухоли и печени при гормональном канцерогенезе.

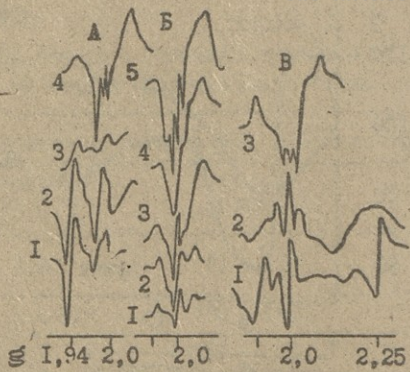


Рис.6. Спектры ЭПР тканей в процессе опухолевой трансформации: А - яичника; Б - молочной железы; В - печени / I-печень, 2,3 - гепатома на различных стадиях/.

го тотального облучения быстрыми нейтронами /5/. Спектры ЭПР радиационно индуцированных опухолей представлены на рис. 7.

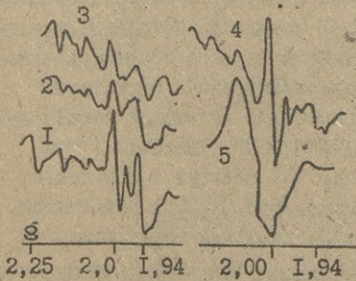


Рис.7. Спектры ЭПР печени /1/; ткани молочной железы /2,4/ интактного животного и опухоленосителя; опухолей молочной железы /3,5/, развившихся после однократного облучения быстрыми нейтронами.

Как следует из представленных данных, в процессе злокачественной трансформации в спектрах ЭПР тканей постепенно исчезают сигналы, характерные для нормально функционирующих тканей, это в основном сигналы железо-серных белков / $g=1,94$ / и свободных радикалов / $g=2,00$ /. На терминальных стадиях регистрируются триплетные сигналы нитрозильных комплексов гемопротеидов, возникающих в условиях гипоксии при распаде дыхательных ансамблей, гипоксии.

Все известные в настоящее время канцерогены, многие ксенобиотики, ионизирующая радиация нарушают дыхание. Классический ингибитор дыхания пункта I ротеон, который избирательно связ-



зается с железо-серными центрами НАДН-дегидрогеназы, является канцерогеном. Митохондрии опухолей, индуцированных ротеноном, не способны к окислительному фосфорилированию с любыми субстратами, в них отсутствует дыхательный контроль, в то время как спонтанная опухоль со сходными морфологическими характеристиками обнаруживала частичное дыхание в присутствии НАДН. /II/. Т.о., результаты свидетельствуют, что наиболее ранней и характерной реакцией на повреждающее воздействие является изменение железо-серных белков НАДН-дегидрогеназы, в случае прогрессирующей патологии их содержание необратимо снижается.

Необратимость процесса свидетельствует о реализации эффекта на уровне генома. Митохондрии имеют собственный автономный геном, - это кольцевая ДНК, в которой отсутствуют некодирующие участки, и выделено 13 генов, кодирующих белки; функции известны только для пяти из них, 8 генов кодируют белки неизвестной природы /I2/. Кодируемые в митохондриях компоненты дыхательной цепи - цитохром b, три субъединицы цитохромоксидазы, АТР-аза b - относятся к числу белков, прочно связанных с митохондриальной мембраной, и специфичны для системы электронтранспортного фосфорилирования. Можно предположить, что синтез железо-серных белков также контролируется геном митохондрий /т.к. они наиболее прочно связаны с митохондриальной мембраной/, чем обеспечивается синтез структурно и функционально полноценной дыхательной цепи, исключая слабо связанные с мембраной цитохром с и убинон. Железо-серные кластеры - самая простая электронтранспортная группа, и они первыми образовались в процессе эволюции. Поскольку митохондрии произошли от пурпурных бактерий в результате симбиоза с примитивными эукариотами, естественно предположить, что те участки железо-серных белков, которые связаны с железом и серой, произошли от более простых ферредоксинам путем комбинации генов и увеличения массы белка. Специальная оценка степени гомологичности показала /2,3/, что 7 из 8 неидентифицированных белков принадлежат одному эволюционному семейству. Эти белки гомологичны бактериальным ферредоксинам типа Нp1р, флаводоксинам, субъединицам А и В фумаратредуктазы *E. coli* - аналогу сукцинатдегидрогеназы, НАДН-дегидрогеназе той же бактерии. Цитохром с₁ по избранному принципу сравнения гомологичен восьмому неидентифицированному гену, а митохондриальная Мп-содержащая супероксиддисмутаза - белку, синтез которого кодируется



тем же геном, что и НАДН-дегидрогеназа, но при обратном порядке - с карбоксильного конца. Таким образом, генетическая система митохондрий обеспечивает синтез всех белков, связанных с митохондриальной мембраной и специфичных для дыхательной цепи.

Для дальнейшего анализа результатов и формулировки некоторых выводов и гипотез следует подняться ступенью выше в иерархии структурной организации - от молекулярного уровня до оргanelлы и клетки. Митохондрии в клетке контролируют такие важнейшие функции как энергообеспечение, транспорт веществ, деление клеток. Процесс деления митохондрий в клетке не подчинен строго клеточному циклу и их количество в определенной мере зависит от условий. Формирование митохондрий в клетке контролируется на основе отбора по функциональному критерию, скорость метаболических процессов определяется потребностью в энергии в каждый конкретный момент, устойчивость системы окислительного фосфорилирования увеличивается в результате ее функционирования. К факторам, индуцирующим деградацию митохондрий, относятся дыхательные ингибиторы и разобщители, анаэробноз. Нарушения начинаются с НАДН-дегидрогеназного комплекса, который наиболее важен в процессе окислительного фосфорилирования: во-первых, функционирование цепи оптимально, когда НАДН является основным донором электронов; во-вторых, этот комплекс - точка приложения действия эндогенных регуляторов энергетических процессов - гормонов. Поэтому любое нарушение в пункте I сопровождается снижением эффективности синтеза АТФ и точности регуляторных воздействий, повышенный в этих условиях уровень радикалов кислорода усугубляет начальные повреждения, активируя перекисное окисление и скорость протеолиза белков.

Митохондрии в клетке представляют собой гетерогенную популяцию. Они отличаются по эффективности биосинтеза АТФ, количеству цитохромов, ДНК, размерам, что обеспечивает системе в целом высокую метаболическую гибкость. В неблагоприятных условиях наиболее уязвимы самые совершенные оргanelлы, т.к. функционируют в условиях, близких к жесткому сопряжению, - они быстрее разрушаются, а утрата их генетического материала необратима, и никакой новой информации не создается. Так идет отбор митохондрий, в которых синтез АТФ осуществляется с мень-

04135740
0020101033

шей эффективностью. В этом плане деградация митохондрий в клетке в целом можно понимать как переход к эволюционно более примитивному типу энергообеспечения. Сама же популяция, а, следовательно, клетка и организм, становятся нечувствительными к лекарствам, ядам и другим противоестественным условиям. Это происходит за счет исчезновения части генома, кодирующего ферменты, которые играют важную роль в регуляции процессов жизнедеятельности в нормальных условиях, в данном случае - НАДН-дегидрогеназный комплекс. При этом может сохраняться работоспособность при умеренных нагрузках, что можно классифицировать как снижение потенциальных возможностей адаптации, а, следовательно, надежности - способности к выполнению функций в изменяющихся условиях среды.

С учетом изложенного появляется возможность объяснить на молекулярно-генетическом уровне процесс старения как накопление мутаций во внехромосомной /митохондриальной/ ДНК, не постулируя при этом наличия гена, либо к.-л. другого механизма, включающего программу старения. Количество молекул ДНК в клетке достаточно велико, что позволяет применить для оценки их совокупности статистические методы. Повреждение определенной молекулы ДНК случайно, но с течением времени количество мутаций, "стирание" информации закономерно и необратимо нарастает, что и определяет процессы старения, ускорение их в неблагоприятных условиях. Эти предположения хорошо согласуются с имеющимися в настоящее время экспериментальными данными и концепциями. Так, установлена обратная корреляция продолжительности жизни у млекопитающих различных видов со способностью тканей к образованию перекисей /9/. Энергетический потенциал продолжительности жизни, равный произведению максимальной продолжительности жизни вида на удельную скорость метаболизма, отражает полную энергию, затраченную за время жизни некоторой определенной ткани на единицу веса. Поэтому именно митохондрии могут служить своего рода "биологическими часами", повреждение которых приводит к резкому возрастанию концентрации свободных радикалов в организме, а, следовательно, к сокращению продолжительности жизни, - и этот процесс на генетическом уровне может быть обусловлен в определенной степени отбором митохондрий /и ДНК/, дефектных по синтезу белков дыхательной цепи.



Для теорий канцерогенеза наиболее узким местом является наличие длительного промежутка времени между действием канцерогенного фактора и появлением клинически обнаруживаемой опухоли. Если предположить, что под воздействием генотоксического агента появляется митохондрия-мутант с дефектной дыхательной цепью, но с достаточно эффективным гликолизом, то с учетом неменделевского цитоплазматического типа наследования после нескольких циклов деления может появиться клетка, содержащая митохондрии преимущественно одного - мутантного типа. После этого механизмы перерождения переключится с внутриклеточного на клеточный, затем тканевой и т.д. Т.е., получается ещё одна, на молекулярно-генетическом уровне, гипотеза, согласно которой предраковые стадии в канцерогенезе рассматриваются как форма физиологической адаптации организма к изменившимся параметрам окружающей среды /10/.

Согласно теории мишени в количественной радиобиологии ядерный геном является основной точкой приложения действия ионизирующей радиации. Однако зависимость доза-эффект в области малых доз, полученная путем экстраполяции, в достаточно большом числе случаев не подтверждается экспериментально. Высказывается предположение, что наряду с ядерной ДНК существует другая мишень, в качестве которой рассматривается структура мембран /6/. Внутренние мембраны митохондрий имеют поверхность, примерно в пять раз превышающую поверхность внешней мембраны; что приводит, как показано выше, к качественному изменению в составе митохондрий в клетке - эффективность энергообеспечения снижается. Второе существенное обстоятельство - ДНК митохондрий сама находится в более уязвимом, чем ядерная ДНК, виде, поскольку лишена гистона и распределена по всему объему клетки. Уязвимость усугубляется отсутствием некодирующих участков - любое "попадание" влечет мутацию.

Вероятность радиационноиндуцированных точечных мутаций при заданной дозе облучения можно оценить, воспользовавшись соотношениями, выведенными из радиационной химии водных растворов по выходам разрушения оснований ДНК, которые достаточно хорошо применимы при оценке радиочувствительности молекулярных компонентов живой клетки. Подсчет показывает, что, например, для клетки гепатоцита при дозе 10 рад вероятность появления митохондрии с кольцевой ДНК, в которой поврежден определенный нук-



дествий, достаточно велика. Возможно, что именно мутации митохондриальных генов будут определяющими при действии малых доз, и их следует учитывать при оценке отдаленных последствий, тем более что основные проявления - ускорение старения, снижение общей резистентности, канцерогенная опасность.

В связи с изложенным, митохондриальную ДНК можно считать частью клеточного генофонда, ответственного за адаптацию; которая всегда связана с изменением энергозатрат. Адаптация может быть определена как комплекс реакций, обеспечивающих выполнение функций для реализации генетической программы развития, в экстремальных условиях увеличивающих шансы индивидуума на выживание и размножение, т.е. это процесс, который зависит от надежности биологической системы - способности живого организма поддерживать оптимальные или близкие к оптимальным значения параметров процессов, обеспечивающих жизнеспособность организма в изменяющейся внешней среде.

ЛИТЕРАТУРА

1. Береговская Н.Н. Влияние химических и радиационных воздействий на железо-серные белки митохондрий и другие парамагнитные центры. Автореф. дис. ... докт.биол.наук. - Тбилиси, 1988. - 37 с.
2. Береговская Н.Н., Савич А.В. Возможное кодирование железо-серных белков в митохондриальном геноме млекопитающих. //Биополимеры и клетка. - 1988. - Т. 4, № 5. - С. 238-245
3. Береговская Н.Н., Савич А.В. Гомологичность аминокислотных последовательностей супероксиддисмутаз и белков, кодируемых на митохондриальном геноме. //Биополимеры и клетка. - 1989. - Т. 5, № 6. - С. 39 - 46.
4. Береговская Н.Н., Савич А.В. Митохондриальный геном как возможная мишень при лучевом воздействии. I Всес. радиобиол. съезд. - Москва. Тез. докл. Т. 4, С. 812-813. - 1989.
5. Береговская Н.Н., Чеботарев Е.Е. Сравнительное изучение железо-серных белков дыхательной цепи при радиационном и химическом канцерогенезе. Там же, С. 810 - 811
6. Кудряшов Д.Б. Лучевое поражение "критических систем". //Лучевое поражение. - М.:Изд-во МГУ, 1987. - С. 5 - 72
7. Савич А.В., Береговская Н.Н. Пути эволюции белков энергетической системы клетки. //В кн.: Онтогенез, эволюция, биосфера. - М.: "Наука", 1989. - С. 91 - 112.



8. Chance B. Electron transfer: pathways, mechanisms and controls // Ann. Rev. Biochem. - 1977. - Vol. 46. - P. 967-980.
9. Culter E.G. Peroxide-producing potential in tissues: inverse correlation with longevity of mammalian species // Proc. Nat. Acad. Sci. USA (Med. Sci.). - 1985. - Vol. 82, № 14. - P. 4798-4802.
10. Farber E. Pre-cancerous steps in carcinogenesis. Their physiological adaptive nature // Biochim. Biophys. Acta: Rev. Cancer. - 1984. - Vol. 738 (CR 10), №. - P. 171-180.
11. Gosálvez M. Carcinogenesis with the insecticide rotenone // Life Sci. - 1983. - Vol. 32, № 8. - P. 809-816.
12. Sequence and organization of the human mitochondrial genome / Anderson S., Pankies A.T., Barrel B.C. e.a. // Nature. - 1981. - Vol. 290. - P. 457 - 465.
13. Sidney D. Nelson. Metabolic activation and drug toxicity // J. Med. Chem. - 1982. - Vol. 25, № 7. - P. 753 - 765.
14. Robin E.D. Overview: some problems of intervention in the metabolic and genetic consequence of hypoxia // Mol. Physiol. - 1985. - Vol. 8. - № 3. - P. 639 - 645.

ЭЛЕКТРОМАГНИТНОЕ ПОЛЕ - МОДИФИКАТОР ПРИ РАДИОТЕРАПИИ
ОПУХОЛЕЙ

Р. Я. Вапквдзе, О. К. Наянова

Онкологический научный центр МЗ Грузии



Исторический опыт терапии злокачественных новообразований с помощью коагулирующей радиации показывает, что развитие ее идет по двум основным направлениям: разработка оптимальных режимов фракционирования дозы, которое рассчитано, в основном, на восстановление жизнедеятельности (или жизнеспособности) нормальных неопухолевых тканей и поиск новых модифицирующих агентов, способных максимально расширить терапевтический интервал между поражением опухоли и окружающих здоровых тканей при лучевой терапии.

В связи с актуальностью данной проблемы, радиобиологами всего мира осуществляется широкий фронт экспериментальных и клинических исследований, посвященных использованию радиомодифицирующих агентов с целью повышения эффективности лучевой терапии. При этом в основу решения данной проблемы положено одно обязательное общее условие - избирательность разнонаправленного радиомодифицирующего эффекта в отношении нормальных и опухолевых тканей, определяемая их клеточно-кинетическими, физиологическими или биохимическими различиями.

Одним из наиболее перспективных, на наш взгляд, физических агентов, изучаемых в последнее время многими учеными, способных повлиять на ход лучевой терапии, является электромагнитное поле. Разноличные результаты, полученные после анализа экспериментальных данных, требуют более детального рассмотрения и исследования по данной проблеме.

Данные, полученные нами ранее при ангиографических и температурных исследованиях, дали возможность разработать режим облучения, эффективность которого в значительной мере зависит от избирательного применения электромагнитного поля как модификатора. Эксперимент проводился на 30 крысах. На температурных кривых и гистограммах, полученных в процессе и после воздействия ЭМП на опухолевых животных, видно, что наибольшее отклонение температурных и васкулярных показателей наблюдается на 15 минуте как в опухолевой, так и в здоровой тканях. Этот факт и был положен в основу при планировании сочетанной с ЭМП лучевой тера-

пией опухолей.

Исходя из таких соображений мы посчитали целесообразным облучать животных в момент наибольшего отклонения температуры, т.е. через 15 минут после тотального воздействия электромагнитного поля на опухолевый организм.

Исследования проводились на 180 крысах с опухолью С-45. Соблюдались все условия эксперимента.

На 12 сутки после прививки опухолей всех животных, у которых размеры опухоли достигли 6-7 см³, помещали в электромагнитное поле на 10 минут. Режим воздействия ЭМП, звукового диапазона и затем облучения применялись те же, методы ежедневно, в течение 5 суток.

Объемы опухолей в течение этих 5 суток регистрировали ежедневно до воздействия ЭМП ионизирующей радиации, а затем на 22, 26, 28 и т.д. сутки.

Измерение температуры животным данной группы проводили 5 суток, начиная с 12-х, ежедневно до ЭМП для получения исходной температуры, а затем после воздействия ЭМП. По изменению температуры все животные У-группы так же, как и в III и IV группах, были разделены на подгруппы: Уа, Уб и Ув.

Подгруппа Уа характеризовалась повышением к 15° температуры опухоли у крыс после воздействия ЭМП. Подгруппа Уб — понижением к 15° температуры после воздействия ЭМП. В подгруппе Ув температура опухоли после помещения животных в ЭМП не менялась.

Животных всех трех подгрупп ежедневно в течение 5 суток через 15 минут после воздействия ЭМП подвергали облучению на аппарате РУМ-17, суммарная доза 35 Грей, фильтр С — 0,5, РИК-30. При построении температурных кривых каждой подгруппы учитывались температуры опухоли и симметричной здоровой ткани, зарегистрированной в течение 5 суток ежедневно до сочетанного действия ЭМП и ионизирующей радиации, а также на 22, 26, 28 и т.д. дни.

Экспериментальные данные, полученные в результате комплексной электромагнитной и радиотерапии, показали, что в зависимости от ответной реакции опухолевого организма на воздействие электромагнитного поля звукового диапазона эффект радиотерапии также различен.

В подгруппе Уа, где температура опухоли после воздействия на организм крыс ЭМП повышается, а температура в симметрич-



ной здоровой области понижается, радиотерапия наиболее эффективна. Уже после трех сеансов сочетанной терапии отмечается повышение температуры в опухоли, а затем медленный ее спад. После 26-30 суток температурные показатели приближаются к температуре здоровых тканей. Срок жизни таких крыс 6-8 месяцев. У некоторых животных через 3-4 месяца опухоли рассосались. Температура в обеих симметричных областях постепенно выровнялась и стала равной температуре интактных крыс (T° ср. пр. = $35,1^{\circ}\text{C}$, T° ср. лев. = $35,2^{\circ}\text{C}$, T° ср. = $0,1^{\circ}\text{C}$ (рис.1).

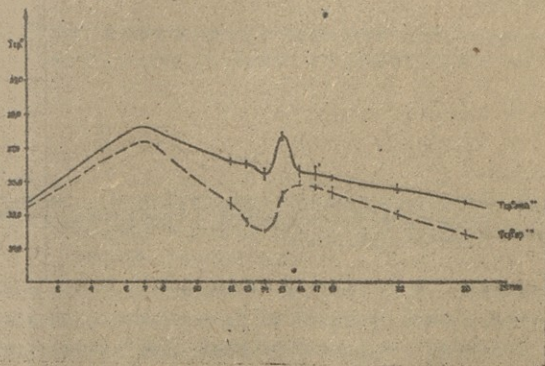


Рис. 1. Изменение температуры опухоли и нормальной ткани при сочетанной электромагнитной и радиотерапии у животных Уа подгруппы

В подгруппе У6, где температуры в опухоли и симметричной нормальной части после ЭМП к 15° понизились, температурная кривая, соответствующая изменению температуры опухоли в процессе ее терапии и после нее, характерна двумя температурными пиками, на 7 и 16 сутки. В нормальной ткани такие пики наблюдаются на 7 и 17 сутки. В дальнейшем до 28 суток температура здоровой ткани держится приблизительно на одном уровне (рис.2).



Рис. 2. Изменение температуры опухоли и нормальной ткани при сочетанной ЭМ и радиотерапии у крыс У6 подгруппы.

В последней Ув группе, где температура после воздействия электромагнитного поля не меняется ни в опухоли, ни в нормальной ткани, т.е. организм устойчив к действию ЭМД данного диапазона, температурная кривая опухоли имеет два пика: на 7 и 17 сутки, а температурная кривая нормальной здоровой ткани - на 7 и 13 сутки после прививки опухоли С-45. После окончания курса терапии в течение 8 суток температура держится на одном уровне, а затем с 22 суток начинает постепенно понижаться, причем в опухоли быстрее, чем в здоровой части. Животные гибнут при T^0 ср.пр. = $27,9^{\circ}\text{C}$, а T^0 ср.лев. = $28,6^{\circ}\text{C}$ (рис. 3).

Если сравнить развитие и рост опухолей в трех подгруппах: а, б и в группы У (рис. 4, Уа); то легко заметить, что в Уа подгруппе рост опухоли с момента начала сочетанного воздействия сначала претормаживается, а затем объем новообразований постепенно уменьшается. У 12 крыс через 3-4 месяца наблюдается полное рассасывание

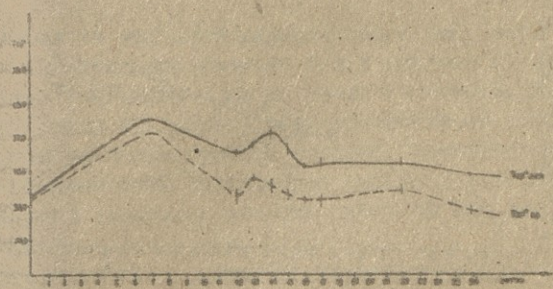


Рис. 3. Изменение температуры опухолевой и нормальной тканей при сочетанной ЭМ и радиации у животных Уа подгруппы

опухолей. Животные становятся практически здоровыми. У остальных животных в течение этого срока отмечается торможение и уменьшение размеров опухоли, а в последующее время опухоль вновь увеличивается, но развитие ее и рост проходит медленнее.

У Уб подгруппы (рис. 4, Уб) кривая роста объемов опухоли после сочетанной магнитотерапии имеет вид плато, т.е. рост опухоли прекращается, но развитие ее и некротизация тканей интенсивнее, что приводит к интоксикации всего организма и ускоренной гибели животных. Крысы погибают при $V_{cr} = 13-14 \text{ см}^3$. Средний срок жизни животных 42-45 дней.

На рис. 4в изображена кривая Ув, соответствующая изменению объемов опухоли С-45 в подгруппе Ув. Как видно из графика, после начала воздействия на опухоль электромагнитного поля и ионизирующей радиации рост опухоли замедляется. К 26 суткам объем новообра-

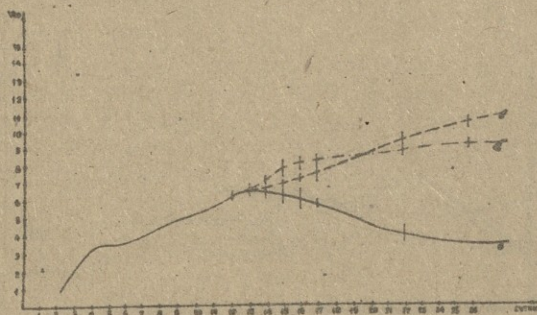


Рис. 4. Изменение объемов экспериментальной опухоли С-45 при сочетанной магниторадиотерапии в подгруппах U_a , U_b и U_v

зования достигает U ср. $U_v = 10,5 - 11,4 \text{ см}^3$, к 35 суткам U ср. $U_a = 13,2 - 14,5 \text{ см}^3$. Животные гибнут на 65-75 сутки с объемом опухоли 19 - 20,5 см^3 .

Таким образом, анализируя все полученные при электромагнитной радиотерапии данные, можно сказать, что наибольший терапевтический эффект наблюдается в подгруппе U_a , где температура после каждого воздействия электромагнитным полем в опухоли повышается. Увеличение кровоснабжения новообразования и спазмирование сосудов в здоровых тканях способствуют, с одной стороны, повышению радиопоражимости опухолевых клеток при облучении ионизирующей радиацией и, с другой стороны, защите нормальных тканей.

Однако, поскольку не все животные реагируют на воздействие электромагнитного поля звукового диапазона одинаково, необходим их отбор.

В U_b подгруппе, где наблюдается понижение температур, при этом отмечается спазмирование сосудов и в опухолевой и в нормаль-



ной тканях, применение ЭМП звукового диапазона по радиотерапии не целесообразно, т.к. данный агент не только не способствует рассасыванию опухолей, но и ускоряет некротизацию опухолей. Это, очевидно, происходит вследствие прекращения поступления в течение 40-45 минут штатальных веществ и кислорода к опухолевым клеткам. Такие клетки становятся резистентными и к применению ионизирующей радиации.

Последняя Ув подгруппа характеризуется тем, что после ЭМП температура в исследуемых областях тела у животных не меняется. У этих крыс элек. магнитное поле не вызывает изменения и васкулярного фактора, тогда как ионизирующая радиация носит существенный вклад в терапию экспериментальных опухолей. Температурные кривые напоминают в своей форме температурные кривые I контрольной группы, что говорит о нецелесообразности применения ЭМП для животных Ув подгруппы.

Анализ результатов позволяет рекомендовать применение ЭМП звукового диапазона как радиомодификатор при радиотерапии опухолей.

ЛИТЕРАТУРА

1. Р.Я.Вейквадзе, Э.Г.Гедеванишвили, О.К.Наянова. Анализ некоторых возможностей применения метода термографии в эксперимента/Мед. рад.-1977.-№2.
2. Гедеванишвили Э.И. Прогнозирование радиочувствительности опухоли по ее термогенезу в процессе роста и радиационного воздействия./Автор.диссертации на соискание ученой степени доктора биологических наук.-Обнинск.-1986.
3. Савченко Н.В. и др. Локальная гипертермия в сочетании с облучением (терморрадиотерапия) при клиническом лечении некоторых форм злокачественных опухолей./Методические рекомендации.-Минск.-1986.
4. Р.Я.Вейквадзе, Э.Г.Гедеванишвили, О.К.Наянова. Термографическая оценка действия метронидазола на крыс С-45//Мат. II Всесоюз. конф. "Тепловидение в медицине" ТЭМП-82, Л.-1982.-С.167-168.



ПРИМЕНЕНИЕ ТЕРМОГРАФИИ В ОЦЕНКЕ РЕАКЦИИ ОРГАНИЗМА
НА ЛОКАЛЬНОЕ ОБЛУЧЕНИЕ ИОНИЗИРУЮЩЕЙ РАДИАЦИЕЙ

Гедеванишвили Э.Г., Капанадзе А.Б.

Онкологический научный центр МЗ Грузии

На современном этапе развития онкологии лучевое лечение является ведущим методом в терапии злокачественных новообразований. Но результаты лечения вынуждают к поиску новых способов подведения дозы.

До недавнего времени общепринятой считалась доза 2 Гр за фракцию, т.к. увеличение этой дозы приводило к усугублению непосредственных реакций, а уменьшение — к неудовлетворительному воздействию на опухоль [1]. Для оптимизации и сравнимости результатов лучевой терапии в 1968 г. Ellis была создана концепция НСД (номинальной стандартной дозы), в основе которой лежит толерантность соединительной ткани как наиболее универсально распространённой и, в конечном счёте, определяющей местные реакции на облучение. Основным недостатком этой теории считалось то, что она не может учитывать индивидуальную радиочувствительность и определяет только предел толерантности соединительной ткани [2]. На самом деле мы считаем, что здесь допускается концептуальная ошибка, т.к. теория НСД рассматривает соединительную ткань отдельно, не учитывая взаимного влияния в системе "опухоль-организм".

В дальнейшем, в обоснование теоретической концепции продолжались попытки усовершенствовать теорию НСД, не касаясь её существенных изъянов [2], а в клинической практике был найден новый, интересный способ подведения дозы путём увеличения количества фракций в день, мультифракционирования. В данной ситуации принципиальным стал вопрос об интервале между фракциями.

Радиобиологическое обоснование мультифракционирования основано на том, что репарация сублетальных повреждений начинается сразу после облучения и завершается примерно через 4 часа. Гипоксические клетки опухоли не могут завершить своё восстановление за это время и при повторном облучении подвергаются дополнительному воздействию. При этом также повышается вероятность их облучения в радиочувствительных фазах клеточного цикла. Из этого следовало, что мультифракционирование должно быть эффективно при быстрорастущих радиочувствительных опухолях. Но на практике оказалось, что



мультифракционирование, в различной степени, эффективно при лечении опухолей [3]. Непосредственные результаты лучше, чем при обычном фракционировании, однако отдалённые результаты почти не различаются. Всё это трудно объяснить с прежних позиций, рассматривая опухоль и окружающие ткани раздельно, а пытаюсь находить и видеть системную реакцию организма на внешнее воздействие.

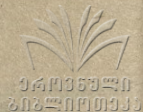
В настоящее время существуют попытки оптимизации интервала между фракциями [4]. Но они направлены на преодоление ранних и поздних реакций окружающих тканей и не учитывают реакцию организма [5]. Кроме того, как отмечает сам автор: "Представленные результаты не могут дать определённых ответов... Но приблизительные значения могут быть приняты к сведению".

Анализ литературы показал, что реакция окружающих опухоль здоровых тканей рассматривается в отрыве от общей реакции организма на местное облучение, отсутствует системный подход.

Для ориентировочного учёта общей реакции на местное облучение нами была выбрана температура. Температурная реакция кожи на ионизирующее излучение в поле облучения описана несколькими авторами. В пределах применяемых ими доз вырисовывается такая картина: в первые минуты после облучения (45-60 мин.) температура кожи в поле облучения падает, затем она начинает повышаться до исходного значения и выше в пределах 1,5-2,5 °C. Далее температура изменяется волнообразно [6,7,8].

В проведённых нами ранее экспериментальных исследованиях [9,10] микроангиографически было доказано, что в процессе роста опухоли, изменение её тепловой картины, главным образом, зависит от кровоснабжения. Там же было показано, что температурная реакция на однократное и фракционированное облучение в дозах 15 и 30Гр также зависит от состояния кровеносного русла. Было замечено, что температурная реакция в поле облучения и в симметричных, необлучённых частях тела протекает одинаково. Сразу после облучения температура падает, пик гипотермии достигается за 25-30 мин., затем идёт медленный подъём температуры и через 48 час. она достигает исходного значения, затем температура изменяется волнообразно. Вне поля облучения температура также зависит от состояния кровеносного русла. Синхронно изменялась и ректальная температура.

Таким образом было доказано в эксперименте, что температура отображает состояние кровеносного русла и её изменения, регистрируемые термографически, позволяет судить о сосудистой реакции ор-



ганизма.

Целью данного исследования является обоснование применения мультифракционированного облучения по термогенезу нормальных, опухолевых и окружающих опухоль здоровых тканей.

Мы изучали термографическую картину грудной клетки больных раком лёгкого, которым проводилась лучевая терапия методом мультифракционирования. Доза за фракцию 1,6 Гр 2 раза в день с интервалом 3,5-4 ч. Рак лёгкого был выбран потому, что термографически диагностируется недостаточно достоверно и термографическая картина грудной клетки, в основном, представлена здоровыми, окружающими опухоль тканями. Наши наблюдения показали, что температурные реакции протекают приблизительно по тому же принципу как в эксперименте, т.е. в поле облучения происходит повышение температуры на 0,8-1,2 °С через 3-3,5 ч. после первой фракции. Сходная реакция наблюдалась на противоположной необлучённой стороне, но колебания температуры были менее выражены.

Наши наблюдения позволяют сделать вывод о том, что эмпирически подобранный интервал между фракциями 3,5-4 ч. имеет клиническую основу, т.к. в это время повышается температура в поле облучения, происходит кровенаполнение в опухоли, оксигенация её клеток она становится более радиочувствительной и легче поддаётся лучевому лечению. Так, наряду с приведённым радиобиологическим обоснованием, можно объяснить хорошие непосредственные результаты мультифракционирования (регрессия рака лёгкого) [11]. Но радиобиологическое обоснование не учитывает, что вследствие выявленной нами термографически общей, организменной реакции, повышается кровенаполнение, оксигенация и, следовательно, радиочувствительность окружающих опухоль здоровых тканей. Это ведёт к их поражению, понижению их сопротивляемости опухолевому процессу, что и ведёт к отдалённым результатам, не отличающимся от обычного фракционирования.

Мы считаем, что невозможно в клинической радиобиологии обойтись без детального изучения температурного ответа организма на местное облучение, т.к. температура отражает состояние кровеносного русла, а кровь является единственным поставщиком кислорода, в значительной мере определяющего радиочувствительность, следовательно, и ответ опухолевой и окружающих здоровых тканей.

Таким образом, проведённые экспериментальные исследования и клинические наблюдения показали, что функциональный метод термо



графии позволяет наблюдать за реакцией организма на локальное лучевое воздействие, учитывая состояние нормальных, опухолевых и окружающих опухоль здоровых тканей; невозможно разрабатывать новые схемы фракционирования, новые подходы в лучевой терапии без учёта реакции организма, как целостной системы, на местное лучевое воздействие.

Л И Т Е Р А Т У Р А

1. Переслегин И.А., Саркисян Ю.Х. - Клиническая радиология. М., Медицина, 1973.
2. Жолкивер К.И., Мед. радиол., 1983, №7, с.7.
3. Лесков В.П., Мардынский Ю.С., Мед. радиол., 1987, №7, с. 30.
4. Корнатов Л.И., Ильин Н.В., Мед. радиол., 1987, №12, с.57.
5. Fowler J. F. Acta Oncologica 1988, v.27, №2, p. 181
6. Домбровский А.И., Русский вестник дерматологии, 1928, т.VI, №10, с.1028.
7. Ябленик Е.Б., Мед. радиол., 1967, №6, с.32.
8. Таратухин В.Р., Раппопорт И.А., Лемеш Г.А., Мед. радиол. 1967, №6, с.61.
9. Гедеванишвили Э.Г., Малыгина А.И., Морозова Т.Г. Микрорентгенография в изучении состояния кровеносных сосудов и температурного статуса опухоли С-45//Тез. Всесоюз.конф. "Рентгенофункциональные методы исследования различных органов и систем", Обнинск, 1983, с.82.
10. Гедеванишвили Э.Г., Прогнозирование радиочувствительности опухоли по её термогенезу в процессе роста и радиационного воздействия. Диссерт. докт. биол. наук, Обнинск, 1988.
11. Вейхвядзе Р.Я., Гедеванишвили Э.Г., Капанадзе А.Б., Атуашвили Н.Г. Применение системы "Термограф-ЭВМ" при мультифракционированном облучении рака лёгкого //Тез.докл.на IУ Всесоюз.конф. "Тепловизионная медицинская аппаратура и практика её применения" - ТЭМП-88., Л., октябрь 1988, т.I, с.151.



ЦИСТАТИНЫ: ИНГИБИТОРЫ ЦИСТЕИНОВЫХ ПРОТЕИНАЗ

З. Гжонка

Институт химии Гданьского университета. Гданьск, Польша

Равновесие между активностью протеолитических ферментов и их ингибиторов, находящееся в живых организмах, существенным образом влияет на устойчивость метаболических систем. Важную группу протеиназ образуют цистеиновые протеиназы, содержащие в своем каталитическом центре свободную тиоловую группу цистеина. Цистеиновые протеиназы млекопитающих участвуют, в частности, в катаболизме пептидов и белков, в процессинге прогормонов, деградации коллагена, а также считаются важным фактором проникновения злокачественных клеток в нормальные ткани. Некоторые микроорганизмы синтезируют цистеиновые протеиназы, принимающие участие в процессах их размножения и играющие, по-видимому, важную роль в инфильтрации микроорганизмов, в том числе вирусов, в ткани млекопитающих при инфекции. Недавно выделены и описаны несколько близких друг другу в структурно-отношении низкомолекулярных белков, ингибирующих активность цистеиновых протеиназ. Эти природные ингибиторы были названы цистатинами; они образуют цистатиновое суперсемейство белков (1).

По-видимому, наиболее важным в физиологическом отношении внеклеточным цистатином является цистатин С, состоящий из одной полипептидной цепи, включающей 120 аминокислотных остатков (рис. 1). Он выделен из мочи человека.

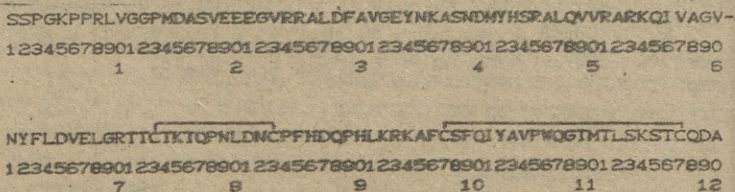


Рис. 1. Аминокислотная последовательность цистатина С человека.



С помощью иммунохимических тестов, использующих специфические антитела к цистатинам, установлено (2), что эти ингибиторы присутствуют в различных биологических жидкостях, но их молярные концентрации и относительное содержание колеблется в зависимости от вида жидкости (рис. 2).

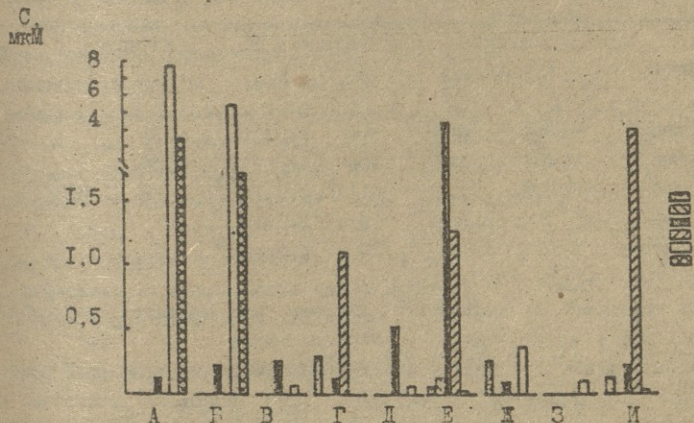


Рис. 2. Концентрация цистатинов в биологических жидкостях человека (в микромолях): А - плазма крови, Б - синовиальная жидкость, В - молоко, Г - слюна, Д - спинномозговая жидкость, Е - плазма спермы, - околоплодная жидкость, З - моча, И - слезы.

1 - цистатин А, 2 - цистатин В, 3 - цистатин С, 4 - цистатины S+SU, 5 - кининоген, 6 - α_2 -макроглобулин.

Механизм взаимодействия цистатинов с цистеиновыми протеиназами - конкурентный и обратимый. Как свидетельствуют результаты измерений констант ингибирования и констант скорости диссоциации комплексов фермент-ингибитор цистатинов А, В, С, SU и L-кининогена с различными цистеиновыми протеиназами - папаином, катепсинами В и Н (3,4) - сродство ингибиторов к ферментам очень велико (табл. 1).

Константы ингибирования (K_i , μM) и константы скорости диссоциации (k_{-1} , с^{-1}) комплексов цистатинов с цистеиновыми протеиназами.

| Ингибитор | папаин | | катепсин В | | катепсин Н | |
|-------------|--------|----------------------|------------|----------------------|------------|----------------------|
| | K_i | k_{-1} | K_i | k_{-1} | K_i | k_{-1} |
| цистатин А | 0,007 | $2,6 \times 10^{-5}$ | 3,9 | $2,2 \times 10^{-4}$ | 0,31 | |
| цистатин В | 0,034 | $1,4 \times 10^{-3}$ | 16 | $2,2 \times 10^{-4}$ | 0,58 | |
| цистатин С | <0,005 | | 0,29 | $6,3 \times 10^{-4}$ | 0,28 | $6,8 \times 10^{-3}$ |
| цистатин SU | 0,016 | $3,0 \times 10^{-4}$ | 19 | $3,0 \times 10^{-3}$ | | |
| L-кининоген | 0,009 | $2,5 \times 10^{-4}$ | 30 | $4,6 \times 10^{-4}$ | 1,2 | |

Выполненные к настоящему времени исследования механизма ингибирования цистатинов свидетельствуют о том, что N-терминальный фрагмент вблизи эволюционно-консервативного остатка Gly¹¹ является существенным для высокого сродства к цистеиновым протеиназам. Предполагается, что этот фрагмент взаимодействует с другим связывающим центром цистатина Glu⁵⁵... Gly⁵⁹ (рис. 3).

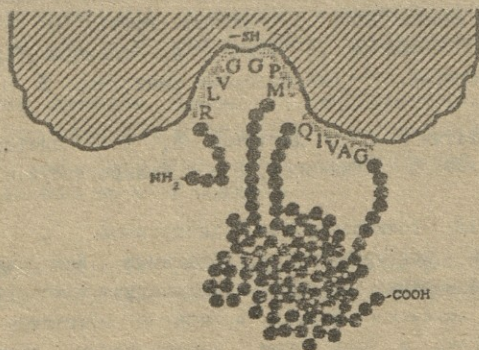
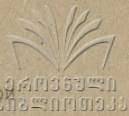


Рис. 3. Схематическая модель взаимодействия цистатина С с цистеиновыми протеиназами.



Отмечено также, что папаин катализирует гидролиз пептидной связи между остатками Gly¹¹-Gly¹² цистатина С. Образующийся в результате модифицированный (12 - 120)-цистатин является гораздо более слабым ингибитором папаина с константой ингибирования примерно в тысячу раз большей, чем у нативного цистатина С (5).

Выполненные нами исследования деградации различных N-терминальных фрагментов цистатина С показали, что самым коротким пептидом, связывающимся с папаином как субстрат, является Arg-Leu-Val-Gly (рис. 4). Устойчивость связи Gly-Gly во фрагменте 11...15 свидетельствует о том, что основное взаимодействие между N-концевым сегментом цистатина С и папаином осуществляется за счет N-концевых соседей остатка Gly¹¹, т.е. остатки Arg⁸(P₄), Leu⁹(P₃) и/или Val¹⁰(P₂) взаимодействуют соответственно с позициями S₄, S₃ и S₂ папаина. Эти результаты позволяют предположить, что с активным центром папаина взаимодействует пептидная связь Gly¹¹-Gly¹² (6,7).

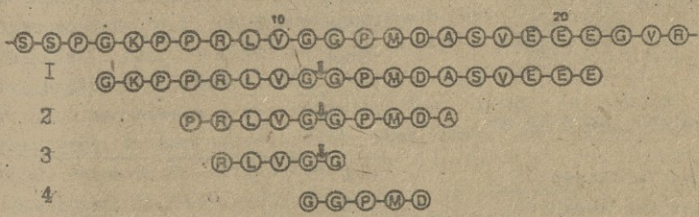


Рис. 4. Последовательности N-концевого фрагмента цистатина С и пептидов, испытывавшихся в качестве субстратов папаина. Скорость гидролиза пептидной связи убывала в ряду соединений 1 - 3. Пептид 4 не гидролизировался под действием папаина.

Основываясь на этих данных, мы сконструировали и синтезировали ряд пептидных производных, в которых была осуществлена модификация пептидной связи (табл. 2). Наиболее сильными ингибиторами оказались производные с diazometилкетонной группой. Два из них, Z-Arg(HCl)-Leu-Val-Gly-SNH₂ и Z-Leu-Val-Gly-SNH₂ быстро и необратимо ингибировали цистеиновые протеиназы: папаин, катепсин В и стрептококковую протеиназу. При этом они не влияли на протеолитическую активность трипсина.



(сериновая протеиназа), пепсина (аспартиловая протеиназа), а также термолизина и клостридиальной протеиназы (металлопротеиназы) даже в концентрации 100 микромолей.

Таблица 2

Ингибирующая активность пептидных производных, содержащих N-концевой фрагмент цистатина С

| Соединение | папаин | катепсин В | стрептококковая протеиназа |
|--|-------------------------|------------|----------------------------|
| Необратимые ингибиторы | $k'_{+2}, M^{-1}c^{-1}$ | | |
| Hoc-Val-Gly-CHN ₂ | 5000 | 230 | 20 |
| Z-Leu-Val-Gly-CHN ₂ | 300000 | 3300 | 102 |
| Z-Arg(NHCl)-Leu-Val-Gly-CHN ₂ | 228000 | | |
| Z-Leu-Leu-Gly-CHN ₂ | ~18000 | | |
| Z-Ile-Val-Gly-CHN ₂ | ~15000 | | |
| Z-Ile-Pro-Gly-CHN ₂ | ~9000 | | |
| Обратимые ингибиторы | $K_i, \mu M$ | | |
| Z-Leu-Val-ArgEn-ON | 0.4 | | |
| Z-Leu-Val-Argva-ON | 0.15 | | |

Диазметилкетонные производные ряда других пептидов, соответствующих аминокислотным последовательностям гомологичных фрагментов различных цистатинов также необратимо ингибировали цистеиновые протеиназы. Производные, в которых пептидная связь -CO-NH- была заменена изостерической связью -CH-SN- (Z-Leu-Val-ArgEn-ON) или -CH-SN- (Z-Leu-Val-Argva-ON) обладали слабым обратимым ингибирующим действием на папаин.

Z-Leu-Val-Gly-CHN₂ был исследован как бактерицидный агент в тестах *in vitro* в отношении большого числа бактериальных штаммов, относящихся к 13 различным видам. Было установлено, что он специфически ингибирует рост всех штаммов стрептококковой группы А. Как следует из предварительных исследований, этот



ингибирующий эффект обусловлен блокированием стрептококковой протеиназы, необходимой для роста бактерий. Это же соединение оказалось активным в отношении стрептококков группы А также в опытах на членистоногих мыши, инфицированные смертельной дозой этих бактерий. Излечивались одной дозой (0,2 мг) Z-Leu-Val-Gly-CNH₂(8)

ЛИТЕРАТУРА

1. A. J. Barrett, H. Fr. t., A. Grubb, S. Isemura, M. Jarvinen, N. Katunuma, W. Machleidt, W. Muller-Esterl, M. Sasaki, V. Turk, *Biochem. J.*, **236**, 312, 1986
2. A. Grubb, H. Lofberg, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **79**, 3024 - 3027, 1982
3. A. J. Barrett, M. E. Davis, A. Grubb, *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, **120**, 631 - 636, 1984
4. A. J. Barrett, N. D. Rawlings, M. E. Davis, W. Machleidt, G. Salvesen, V. Turk, in *Proteinase Inhibitors*, A. J. Barrett, G. Salvesen, eds., Elsevier Scientific Publishing Company, Amsterdam, 515 - 569, 1986
5. M. Abrahamson, A. Pitonja, M. A. Brown, A. Grubb, W. Machleidt, A. Barrett, *J. Biol. Chem.*, **262**, 9688 - 9694, 1987
6. Z. Grzonka, R. Kasprzykowska, F. Kasprzykowski, A. Grubb, M. Abrahamson, I. Olafsson, J. Trojnar, in *Peptides*, J. Rivier, G. M. Marshall, eds., ESCOM, Leiden, 375 - 377, 1990
7. A. Grubb, M. Abrahamson, I. Olafsson, J. Trojnar, R. Kasprzykowska, F. Kasprzykowski, Z. Grzonka, *Biol. Chem. Hoppe-Seyler*, в печати
8. E. L. Bjork, P. Akesson, M. Bohus, J. Trojnar, M. Abrahamson, I. Olafsson, A. Grubb, *Nature*, **337**, 385 - 386, 1989



УСТОЙЧИВОСТЬ АТФ-СИНТЕЗИРУЮЩИХ СИСТЕМ ХЛОРОПЛАСТОВ К ДЕЙСТВИЮ ИОНИЗИРУЮЩИХ ИЗЛУЧЕНИЙ

Н.В.Гончарова, В.И.Гапоненко
Институт радиобиологии АН БССР, Минск.

Выживаемость растительных организмов, их способность сохранять продуктивность в экстремальных условиях существования зависит от надёжности всех молекулярных, клеточных и тканевых систем / 1 /. Большой интерес представляют хлоропласты как морфологические образования, сосредоточившие в себе богатый набор ферментов и осуществляющие процесс фотосинтеза, характеризующийся тонко слаженной работой многих систем, аккумулирующих и трансформирующих световую энергию в виде макроэргических соединений АТФ / 2 /. Фотосинтез, длительное время рассматривавшийся как происходящий сначала просто в листе, а позднее в хлоропласте, в исследованиях А.А. Шлыка и сотр. получил детальную локализацию с вычленением роли хлоропластных мембран и отдельных структурных компонентов, образующих эти мембраны / 3 /.

В связи с повышением в ряде регионов радиационного фона, в результате Чернобыльской аварии, несомненный интерес представляет изучение действия ионизирующих излучений на фотосинтез — важнейший процесс жизнедеятельности растительных организмов. Имеющиеся в литературе сведения о влиянии радиации на фотосинтетический аппарат неоднозначны. Согласно данным одних исследователей / 4 /, полное подавление фотосинтеза наблюдается при облучении высокими дозами. В других работах обнаружено снижение интенсивности фотосинтеза в листьях кукурузы, выращенной из семян, получивших невысокую дозу / 5 /. Сообщается / 6 / о разрушении мембран хлоропластов при облучении дозой 1 тыс. Гр, в то время как у молодых листьев традесканции / 7 / при облучении дозой 2 тыс. Гр отклонений от контроля не обнаружено. В исследованиях одних авторов / 8 / небольшие дозы облучения, слабо угнетающие рост, отрицательно сказываются на биосинтезе хлорофилла, однако имеются данные / 9 /, свидетельствующие о высокой радиорезистентности биосинтеза этого пигмента.

Задачей исследований явилось изучение влияния ионизирующих излучений на основные фотосинтетические процессы, осуществляемые хлоропластами: реакцию Хилла, наблюдаемую при использовании феррицианида в качестве донора электронов, циклическо-



го и нециклического фосфорилирования, процессов сопряженных с синтезом АТФ.

Объектом исследований служили изолированные хлоропласты 12-дневных проростков *Pisum sativum*, выращенных в водной культуре, которые использовали в качестве модели для сравнительного изучения действия ионизирующих излучений (рентгеновы и гамма-лучи) в дозах 5, 10, 50 и 100 Гр на фотосинтетическое фосфорилирование и фоторазложение воды. Однократному облучению на установке ^{60}Co (мощность дозы - 0,05 Гр/с) и РУМ (ток - 5 мкАпер, напряжение - 200 кв, фокусное расстояние - 30 см, без фильтра) подвергали семена гороха, проростки, а также хлоропласты *in vitro* в дозах 5, 10, 50 и 100 Гр. Контролем служили хлоропласты, выделенные из необлученных растений.

Хлоропласты выделяли в 50 мМ Невес. NaOH буфере pH - 7,8, содержащем 10 мМ KCl, 4 мМ меркаптоэтанол, 1 мМ ЭДТА, 0,4 М сахарозу, 5%-ный полиэтиленгликоль - 4000 и 0,1% - ный яичный альбумин. Навеску листьев (10-20 гр) измельчали в течение 10-30 секунд при 15000 об/мин с помощью гомогенизатора "Bionix" (Венгрия). Гомогенат фильтровали через два слоя нейлона и центрифугировали 5 мин. при 1000g. осадок отбрасывали, а супернатант центрифугировали в течение 10 мин при 6000g. С скорости фотофосфорилирования судили по убыли неорганического фосфора в освещенных пробирках по сравнению с контрольными темновыми / I0 /. Реакцию Хилла, служащую показателем функционирования нециклического пути транспорта электронов, учитывали по восстановлению феррицианида / II /. Содержание хлорофилла определяли по Арнону / I2 /, а белок по Лоури / I3 /.

Исследование процессов циклического и нециклического фосфорилирования в разных условиях эксперимента позволило обнаружить различия, проявляемые активно и слабо фосфорилирующими препаратами хлоропластов в зависимости от дозы и способа облучения: семена, 12-дневные проростки, хлоропласты *in vitro*.

Анализ данных, приведенных в таблицах I и 2, показывает, что облучение семян и проростков вызывает повышение активности фосфорилирующих систем, выделенных из них хлоропластов, по сравнению с контролем, при этом увеличение дозы облучения снижает эффект стимулирующего действия радиации, в то время как увеличение дозы облучения хлоропластов *in vitro* вызывает стимуляцию активности фосфорилирующих систем.

Сравнение скорости фотовосстановления $K_3Fe(CN)_6$ (мкмоль/кл в ч) изолированных хлоропластов в зависимости от дозы и способа облучения (отношение к контролю).

| Доза! (Гр) ! | Облучённые | | |
|-----------------|------------|-------------|---------------|
| | семена ! | проростки ! | х-ты in vitro |
| Контр. | I | I | I |
| 5 | 1,54±0,14 | 1,72±0,57 | 1,02±0,10 |
| 10 | 1,57±0,21 | 1,65±0,42 | 1,16±0,10 |
| 50 | 1,48±0,37 | 1,65±0,80 | 1,27±0,30 |
| 100 | 1,12±0,42 | 1,46±0,52 | 1,37±0,20 |

Таблица 2.

Сравнение активности фотофосфорилирования в присутствии ФМС опытных систем хлоропластов (мкмоль P_H на мг хл в ч.) в зависимости от дозы и способа облучения (отношение к контролю).

| Доза ! (Гр) ! | Облучённые | | |
|------------------|------------|-------------|---------------|
| | семена ! | проростки ! | х-ты in vitro |
| Контр. | I | I | I |
| 5 | 1,38±0,41 | 1,96±0,72 | 1,38±0,24 |
| 10 | 1,31±0,24 | 2,38±0,55 | 1,51±0,62 |
| 50 | 1,44±0,32 | 2,83±0,84 | 2,27±0,51 |
| 100 | 1,49±0,21 | 3,59±1,21 | 2,33±0,36 |

Полученные результаты позволяют заключить, что под влиянием ионизирующих излучений изменяется интенсивность процессов фотосинтеза и что эти процессы связаны не столько с прямым действием радиации на хлоропластные мембраны (облучение хлоропластов in vitro), сколько с действием радиации на ферментативные, регуляторные системы фотосинтеза. В пользу этого предположения свидетельствует и больший (по сравнению с облученными хлоропластами in vitro) эффект радиационного воздействия на хлоропласты целого растения и хлоропласты, полученные из проростков, облученных семян. Различия реакций исследуемых фотофосфорилирующих систем на действие радиации можно пытаться объяснить различным исходным конформационным состоянием бе

ковых компонентов и мембран тилакоидов / 14 /. Все отмеченные выше функциональные особенности активно и слабо фосфорилирующих систем свидетельствуют о возможных различиях систем сопряжения у данных типов хлоропластов, обусловленных особенностями функционирования электронтранспортной цепи, устойчивостью мембранных структур, спецификой сопрягаемых белков и др / 15,16,17/.

В таблице 3 представлены результаты опытов с изолированными хлоропластами из 12-дневных проростков инкорпорированных радионуклидами семян (^{137}Cs , ^{134}Cs и ^{90}Sr) и семян, без радионуклидов (контроль).

Таблица 3.

Действие инкорпорированных радионуклидов на синтез АТФ и скорость фотовосстановления $\text{K}_3\text{Fe}(\text{CN})_6$ в изолированных хлоропластах гороха.

| Вариант | ! Поглощение P_H | | ! Восстановление $\text{K}_3\text{Fe}(\text{CN})_6$ | |
|---------------------------------|----------------------------------|--|---|--|
| | мкмоль/мг Хл в 1 час | | | |
| Без радионуклидов (контроль) | 19,1±1,00 | | 45,1± 2,26 | |
| C радионуклидами (опыт) | 42,0±1,91 | | 50,6± 2,53 | |
| опыт/ контроль | 2,24±0,3 | | 1,12± 0,10 | |

Более высокие значения показателей фотохимической активности хлоропластов, выделенных из растений, инкорпорированных радионуклидами, по сравнению с контролем, также указывает на стимулирующее действие радиации на фотосинтетические процессы.

Вся сумма рассмотренных данных позволяет заключить, что действие ионизирующих излучений не вызывает нарушения функциональной потенции сложных структур клетки - хлоропластов, которые проявляют высокую радиостойчивость даже после облучения высокими дозами. Обнаруженное стимулирующее действие ионизирующих излучений на метаболизм пигментов и активность фотохимических реакций, свидетельствует о высоких адаптивных возможностях растений и позволяет предположить, что в условиях повышенного радиационного фона и действия инкорпорированных радионуклидов фотосинтетические процессы в растениях активизируются, что в свою очередь



может благоприятно сказаться на накоплении зеленой массы и формировании урожая.

Литература:

1. Гродзинский Д.М. Надежность растительных систем. Киев: Наукова думка, 1983 - 367 с.
2. Гродзинский Д.М. Радиобиология растений. Киев: Наукова думка 1989 - 384 с.
3. Шлык А.А. Метаболизм хлорофилла в зеленом растении. Минск, "Наука и техника", 1965 - 396 с.
4. Васильев И.М., Рыбалко Н.Д., Цинь-Су-Днь. Накопление сахаров в листьях пшеницы под влиянием рентгеновского облучения. ДАН СССР, 1958, т.119, №1, с. 62.
5. Севастьякова Л.А. Опыт изучения влияния ионизирующих излучений на накопление хлорофилла в листьях кукурузы. Труды Центр. Сиб. ботан. сада. Вып 4, с.129.
6. Rubenstein D. Gamma-ray degradation of chloroplasts structure photoreduction and photoregulation. Ph.D.Thesis of Calif. Davis California, 1964, 1.
7. Сисакян Н.М. Ферментативная активность протоплазмальных структур. Изд-во АН СССР, 1951.
8. Кузин А.М., Сунь Чи, Саенко Г.Н. О функциональной радиочувствительности хлоропластов - Биофизика, 1958, т.3, вып.3, с. 325.
9. Васильев И.М. Действие ионизирующих излучений на растения. Москва, Изд-во АН СССР, 1962.
10. Honda S.L. The salt respiration and phosphate contents of barley roots. - Plant Physiol., 1956, 31, N 1, p. 62-76.
11. Гусева В.А., Курганова Л.Н. Фотосинтетическая активность хлоропластов гречихи в связи с гамма-облучением семян и различными условиями минерального питания. - Радиобиология, 1972, 12, вып. 3, с. 346-400.
12. Arnon D.L. Copper enzymes in isolated chloroplasts polyphenoloxidase in Beta vulgaris. - Plant Physiol., 1949, 24, N 1, p. 1-15.
13. Lowry O.H., Rosenbrough N.G., Farr A.L. Protein measurement with the folin phenol reagent. - Biol. Chem., 1951,



193, № 2, p. 265.

14. Венедиктов П.С., Кренделева Т.Е., Рубин А.Б. Первичные процессы фотосинтеза и физиологическое состояние растительного организма. Физиология фотосинтеза, М., Наука - 1982 с. 55-76.

15. Рубин А.Б., Кренделева Т.Е., Венедиктов Д.Н., Маторин Д.Н. Первичные процессы фотосинтеза и фотосинтетическая продуктивность. Сельскохозяйственная биология, -1984, № с. 81-92.

16. Fujita Y., Myers J. The 2,6-dichlorophenol indophenol - Hill reaction by a cell free preparation of *anabaena cylindrica*. - Arch. Biochem. Biophys., 1965, v. 112, p. 506-512.

17. Mc Carty R., Pascher E. Partial resolution of the enzymes catalyzing photophosphorylation. Activation of adenosine triphosphate and ^{32}P labelled orthophosphate adenosine triphosphate exchange in chloroplasts. - J. Biol. Chem., 1968, v. 243, № 1, p. 129-137.



ИССЛЕДОВАНИЕ БИОДЕГРАДАЦИИ ПОЛИМЕРНЫХ МАТЕРИАЛОВ МЕТОДОМ
ИК-СПЕКТРОСКОПИИ

А.О.Гуджабидзе, М.И.Кожоридзе, Н.А.Куцава, М.А.Царцидзе
НИИ физико-химической и молекулярной биологии ТГУ, Колхидский
научно-исследовательский центр климатических испытаний

Действие внешних факторов /температура, солнечная радиация, влажность, микроорганизмы/ на полимерные материалы вызывает определенные структурные изменения в полимерах, которые отчетливо выявляются при анализе их спектров. Так, например, в определенных областях ИК-спектра полимера можно наблюдать полосы поглощения, характеризующие молекулярно-деструктивные процессы в полимерных материалах/10/. Последнее четко проявляется в ИК-спектрах полимеров при их биодegradации плесневыми грибами: в спектре появляются или исчезают определенные полосы поглощения /9/.

При климатическом старении полиэтилентерефталата в его ИК-спектре появляются новые полосы поглощения в области 400-900 см^{-1} , соответствующие аморфной фазе и дефектной цепи полимера, обусловленные конформационными превращениями /1/. В ИК-спектре полимеров при их старении в природных и искусственных условиях субтропического климата г.Сумгаит увеличиваются интенсивности полос поглощения при 1720 и 3400 см^{-1} , соответствующие C - H и C = O функциональным группам /8/. Широкие размытые полосы в области 1600-1700 см^{-1} и 3200-3500 см^{-1} наблюдаются также в полимерах при их хранении в течение 5000 и 3.800 часов в искусственных или 9-11 лет в природных условиях. Общим для ИК-спектров древесины, подвергнутой воздействию грибов бурой гнили, является возникновение новых полос поглощения при 2860 и 1140 см^{-1} /11/. Повышение интенсивности полос при 1720 и 1740 см^{-1} /соответствующие C=O группам в ацетильных и карбоксильных группах/ указывает на окисление лигнина /5/.

Исходя из вышеизложенного, можно заключить, что изучение процессов биологического разрушения полимерных материалов действительно требует эффективных методов оценки степени повреждения и выявления первичных физико-химических механизмов биодegradации. Одним из возможных путей к решению поставленной задачи является изучение соответствующих спектров поглощения или отражения в ИК-области спектра.

Материалом исследования служили пленки ароматического полиимида, поливинилхлорида и полиэтилентерефталата. Старение и биодег-



радиацию этих полимеров проводили как в условиях влажных субтропиков /на микологической площадке, под брезентовым навесом и в складском помещении/ Колхидского научно-исследовательского центра с. Шекветили Озургетского района Грузии, так и в лабораторных условиях согласно методике, описанной в работе /2/.

Для изучения структурных изменений полимера в процессе биодеградации полимерных материалов плесневыми грибами были использованы методы ИК-спектрального анализа. ИК-спектры снимали на спектрофотометрах Перкин-Эльмер, модель 457, и Спекорд М-80, а НПСО-спектр /нарушенное полное внутреннее отражение/ отражения на Фурье-спектрометре Бекман JP 750 М. Характерные полосы поглощения испытанных полимерных материалов даны в таблицах 1, 2, 3 /4, 7/.

Подробно был изучен ИК-спектр полиимидной пленки при её биодеградации в условиях влажных субтропиков. В таблице 4 представлен ряд полос разностного ИК-спектра ароматического полиимида /разностный ИК-спектр получали путем вычитания спектра биодеградированной пленки от нормальной/.

ТАБЛИЦА I

Ряд характерных полос поглощения полиимидной пленки в ИК-области спектра

| Волновое число, см ⁻¹ | Функциональная группа | Волновое число, см ⁻¹ | Функциональная группа |
|----------------------------------|-----------------------|----------------------------------|-----------------------|
| 1776 | Имидный цикл | 1232 | |
| 1708 | Имидный цикл | 1168 | |
| 1592 | C = C | 1116 | =C - O - C = |
| 1512 | Нитрогруппа имида | 1092 | |
| 1496 | C = C | 1048 | |
| 1456 | C = C | 1016 | Бензольное кольцо |
| 1388 | Имидный цикл | 880 | Нитрогруппа имида |
| 1368 | Нитрогруппа имида | 824 | |
| 1304 | C _{ар.} - N | 728 | имидный цикл |
| 1288 | C _{ар.} - N | 704 | енильная группа |
| 1248 | | | |

ТАБЛИЦА 2

Ряд характерных полос поглощения поливинилхлорида в ИК-области спектра

| Волновое число, см ⁻¹ | Функциональная группа | Волновое число, см ⁻¹ | Функциональная группа |
|----------------------------------|--|----------------------------------|-------------------------|
| 2968 | $\nu(\text{C-H})$ | 1128 | $\nu(\text{C-Cl})$ |
| 2912 | $\nu_{\text{a}}(\text{CH}_2)$ | 1092 | $\nu(\text{C-Cl})$ |
| 1456 | $\delta(\text{CH}_2)$ | 1070 | $\nu(\text{C-Cl})$ |
| 1416 | $\delta(\text{CH}_2)$ | 984 | $\delta_2(\text{CH}_2)$ |
| 1384 | $\delta_{\omega}(\text{CH}_2)$ | 960 | $\delta_2(\text{CH}_2)$ |
| 1328 | $\delta_{\text{t}}(\text{CH}_2), \delta(\text{C-H})$ | 936 | $\delta_2(\text{CH}_2)$ |
| 1272 | $\delta(\text{C-H})$ | 832 | $\delta_2(\text{CH}_2)$ |
| 1248 | $\delta(\text{C-H})$ | 638 | $\nu(\text{C-Cl})$ |
| 1232 | $\delta(\text{C-H})$ | 648 | $\nu(\text{C-Cl})$ |
| 1216 | $\delta_{\omega}(\text{C-H})$ | 632 | $\nu(\text{C-Cl})$ |
| 1200 | $\delta_{\omega}(\text{C-H})$ | 360 | $\nu(\text{C-Cl})$ |

ТАБЛИЦА 3

Ряд характерных полос поглощения полиэтилентерефталата в ИК-области спектра

| Волновое число, см ⁻¹ | Функциональная группа | Волновое число, см ⁻¹ | Функциональная группа |
|----------------------------------|---------------------------------------|----------------------------------|--|
| 3052 | Бензольное кольцо | 1474 | Бензольное кольцо |
| 2964 | $\nu_{\text{a}}(\text{CH}_2)$ | 1368, 1344 | $\delta_{\omega}(\text{CH}_2)$ гош |
| 2904 | $\nu_{\text{a}}(\text{CH}_2)$ транс | 1796 | |
| 2648 | Аморфная фаза | 1132 | $\nu(\text{C-C})$ |
| 2492 | Аморфная фаза | 1020 | |
| 2220 | Кристал. фаза | 972 | $\nu(\text{C=O})$ |
| 2088 | Аморфная фаза | 872 | |
| 1956 | | 848 | $\delta_2(\text{CH}_2)$ транс |
| 1728 | $\nu(\text{C=O})$ | 792 | $\delta_2(\text{C=O}), \delta(\text{C=O})$ |
| 1576 | $\nu_{\text{a}}(\text{H})$ | 728 | |
| 1556 | $\nu(\text{O-C}), \delta(\text{C=O})$ | 680 | |
| 1536 | $\nu(\text{O-C}), \delta(\text{C=O})$ | 632 | $\delta(\text{C=O})$ |
| 1504 | | 508 | $\delta_{\omega}(\text{C=O})$ |
| 1468 | $\delta(\text{CH}_2)$ транс | 436 | $\delta(\text{C=O})$ |

Исследование изменения интенсивности полос ИК-спектра ароматического полиимида после его биодegradации в условиях влажных субтропиков

| Изменение интен- сивности полос, см ⁻¹ | Условия биодegradации | | |
|---|-------------------------|-------------------|---------------------|
| | Микологическая площадка | Брезентовый навес | Складское помещение |
| 1778 | -0,1904 | -0,0771 | -0,0271 |
| 1645 | +0,1006 | +0,0887 | +0,0223 |
| 1260 | -0,1364 | -0,0517 | -0,0499 |
| 1016 | -0,0679 | -0,0343 | -0,0017 |
| 784 | -0,1210 | -0,0900 | -0,0008 |
| 536 | -0,1248 | -0,0397 | -0,0011 |
| 426 | -0,0646 | -0,0026 | -0,0070 |
| 298 | -0,0706 | -0,0565 | -0,0385 |

В ранних наших экспериментах /3/ было показано, что в условиях влажных субтропиков наиболее существенные изменения претерпевают материалы, находящиеся на микологической площадке. Исследования ИК-спектров полиимида в этих же условиях также показывают, что самые значительные изменения в интенсивностях полос поглощения в ИК-спектрах полиимида претерпевает по мер с микологической площадки. Особенно сильно изменяется интенсивность полос при 1778, 1645, 1260 и 596 см⁻¹. По данным Е.В.Федоровой /6/, если каким-либо путем происходит разрушение функциональной группы $N < \begin{matrix} C \equiv O \\ C=O \end{matrix}$ /в ИК-спектре соответствует полоса при 1778 см⁻¹/, то должен увеличиться интенсивность полосы при 1645 см⁻¹. Анализ данных, приведенных в таблице 4, указывает на то, что с увеличением степени биодegradации полиимида /склад > брезентовый навес > микологическая площадка/ сильнее уменьшается интенсивность полосы при 1778 см⁻¹ и параллельно увеличивается интенсивность полосы при 1645 см⁻¹.

В полиимидной пленке кроме имидного цикла плесневые грибы разрушают связь C_{ар}-O-C_{ар}. Это доказывается уменьшением интенсивности полос при 1250 и 790 см⁻¹. Уменьшение интенсивности полосы при 784 см⁻¹ также указывает на разрыв связи C_{ар}-N плесневыми грибами. Значительные изменения интенсивностей полос поглощения при 596 и 430 см⁻¹, соответствующие функциональным

049357240
202209190333

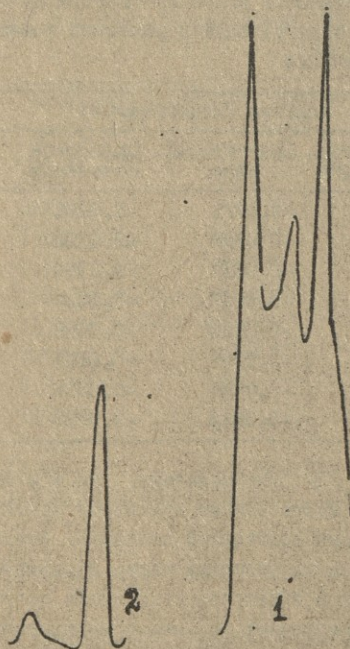


Рис. 1. Изменение интенсивности полос поглощения полиимидной пленки в области 940 - 900 см⁻¹ в норме /1/ и при биоразрушении полимера в условиях влажных субтропиков /2/.

группам C_{ар}-O-N и C=O, также указывает на разрыв этих связей в полиимиде плесневыми грибами.

Доказательством наших рассуждений служит ИК-спектр полиимидной пленки при ее биоразрушении в условиях влажных субтропиков в области 940-900 см⁻¹, обусловленном колебаниями связи C_{ар}-N /рис.1/. На рисунке показано, что биоповреждение полимера уменьшает интенсивность этой полосы поглощения.

С другой стороны, изучение заселенности микроорганизмов на полиимидной пленке показывает, что на ней в основном ассоциированы следующие виды грибов: *Cladosporium*, *Acrodonium* и *Trichoderma*, активность которых убывает в той же последовательности /табл.5/. Сравнительный анализ разрушения имидного цикла различными грибами подтверждает агрессивность *Cladosporium* в отношении полиимидной пленки /рис.2/.

Существующая взаимосвязь между изменением ИК-полос поглощения и биоповреждением полиимидной пленки доказывается и изучением её фурье-спектра /рис.3/. Как видно

ТАБЛИЦА 5

Изменение массы /в мг-ах/ в процессе биодеградация поливинилхлорида в лабораторных условиях различными плесневыми грибами

| Вид гриба | Δ m |
|---------------------|-------------|
| <i>Cladosporium</i> | 2,84 ± 0,23 |
| <i>Trichoderma</i> | 2,70 ± 0,20 |
| <i>Acrodonium</i> | 2,50 ± 0,07 |

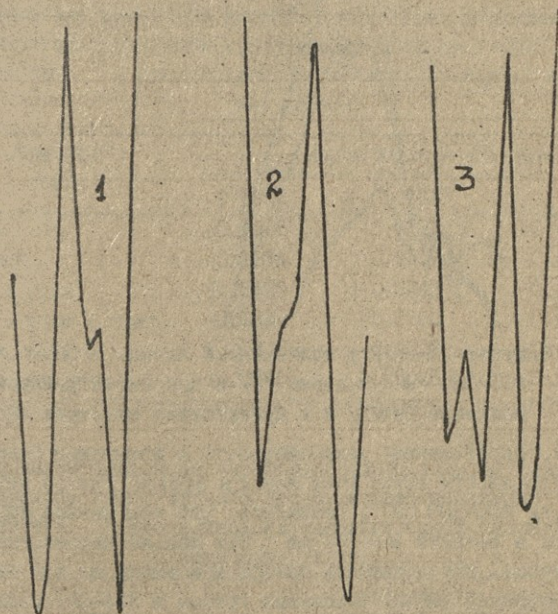


Рис.2.Изменение интенсивности полос поглощения полиимидной пленки в области 1800-1750 см⁻¹ при биодegradации полимера плесневыми грибами видов: *Cladosporium* /1/, *Acrodontium* /2/ и *Trichoderma* /3/.

ТАБЛИЦА 6.

Исследование изменения интенсивности полос поглощения в зависимости от биодegradации поливинилхлорида в природных условиях

| Условия биодegradации | ИК-полосы поглощения, см ⁻¹ | | |
|-------------------------|--|--------|--------|
| | 1216 | 1060 | 960 |
| Контроль | 0,4114 | 0,4005 | 0,4115 |
| Микологическая площадка | 0,2097 | 0,2041 | 0,2415 |
| Брезентовый навес | 0,5005 | 0,3115 | 0,3385 |
| Склад | 0,3995 | 0,5815 | 0,4000 |



Рис.3. Фурье-ИК-спектр полиимидной пленки в области 400-300 см^{-1} в норме /1/ и при биодеградации полимера без/3/ и в присутствии маннитола /2/.

из рисунка, определенная закономерность в изменении биодеградации и интенсивности полос поглощения в фурье-спектре наблюдается в области 400-300 см^{-1} . Оказалось, что чем меньше интенсивность полос в области 360-340 см^{-1} , тем меньше повреждена полиимидная пленка. Интенсивность полосы максимальная при биодеградации полиимидной пленки плесневым грибом в лабораторных условиях. Однако, в присутствии маннитола интенсивность данной полосы занимает среднее положение между контрольной и биодеградированной пленками. Это также подтверждает высказанную нами ранее предположение, что в процессах биодеградации полимеров помимо ферментных систем участвуют и активные формы кислорода.

Таким образом, исходя из вышеизложенного можно заключить, что с помощью ИК-спектров возможно определение степени биодеградации полиимидной пленки.

Каковы закономерности в изменении ИК-спектров других использованных нами в экспериментах полимеров: поливинилхлорида и полиэтилентерефталата?

Изучение ИК-спектров поливинилхлоридной пленки показывает, что закономерная связь между изменением интенсивности полос ИК-поглощения и степенью биодеградации поливинилхлорида наблюдается в области 1220-960 см^{-1} /табл. 6-10/. Как видно из таблицы 6, чем меньше изменение интенсивности полос в области 1216 см^{-1} , 1060 и 960 см^{-1} , тем больше биодеградация поливинилхлорида и оно увели-



ТАБЛИЦА 7

Исследование изменения интенсивности полос поглощения поливинилхлорида /ПВХ/ при его биодegradации плесневым грибом *Trichoderma* в присутствии синглетного кислорода в модельных опытах

| Варианты опыта | Интенсивность ИК-полос, см ⁻¹ | | |
|------------------------------|--|--------|--------|
| | 1216 | 1060 | 960 |
| Контроль | 0,4000 | 0,4080 | 0,4000 |
| ПВХ + гриб | 0,2300 | 0,2400 | 0,2688 |
| ПВХ + γ + роза | 0,3000 | 0,3010 | 0,3300 |
| ПВХ + γ + роза + гриб | 0,2800 | - | 0,2200 |
| ПВХ + γ + р а § | | | |
| гриб + β -каротин | 0,3200 | 0,4000 | 0,2200 |

ТАБЛИЦА 8

Исследование изменения интенсивности полос поглощения поливинилхлорида /ПВХ/ при его биодegradации плесневым грибом *Trichoderma* в присутствии супероксид анион-радикала в модельных опытах

| Варианты опыта | Интенсивность полос при 1216 см ⁻¹ |
|---|---|
| 1. Контроль | 0,4000 |
| 2. ПВХ + гриб | 0,2300 |
| 3. ПВХ + гриб + γ + рибофлавин | 0,2407 |
| 4. ПВХ + гриб + γ + рибофлавин + метирапон | 0,2561 |
| 5. ПВХ + γ + рибофлавин | 0,2436 |

чивается в ряду: микологическая площадка > брезентовый навес > склад.

Однако следует отметить, что исследование изменения ИК-полосы, обусловленное колебаниями функциональной группы С - С1 /область поглощения 690 - 630 см⁻¹/, не дает возможности судить о степени биодegradации поливинилхлорида, так как указанные выше полосы полностью исчезают после биодegradации полимера.

При исследовании роли активных форм кислорода в биодegradации поливинилхлорида с помощью его ИК-спектров было показано, что все

ТАБЛИЦА 9

Исследование изменения интенсивности полосы поглощения поливинилхлорида /ПВХ/ при его биodeградации плесневым грибом *Trichoderma* в присутствии гидроксильного радикала в модельных опытах

| № | Варианты опыта | Интенсивность полосы при 1016 см ⁻¹ |
|----|--|--|
| 1. | Контроль | 0,4000 |
| 2. | ПВХ + гриб | 0,2300 |
| 3. | ПВХ + гриб + НАД-Н | 0,2799 |
| 4. | ПВХ + гриб + НАД-Н + H ₂ O ₂ | 0,2012 |
| 5. | ПВХ + гриб + НАД-Н + H ₂ O ₂ + манитол | 0,3043 |
| 6. | ПВХ + НАД-Н + H ₂ O ₂ | 0,2511 |

ТАБЛИЦА 10

Исследование изменения интенсивности полос поглощения при биodeградации полиэтилентерефталата в условиях влажных субстратов

| Изменение интенсивности полос, см ⁻¹ | Условия биodeградации | | |
|---|-------------------------|-------------------|---------------------|
| | Микологическая площадка | Брезентовый навес | Складское помещение |
| I712 | -0,079 | -0,072 | 0 |
| I456 | -0,09 | -0,021 | +0,113 |
| I368 | +0,26 | +0,046 | - |
| I336 | -0,045 | -0,083 | - |
| I252 | +0,222 | +0,06 | - |
| 998 | +0,97 | +0,041 | - |
| 720 | +0,06 | +0,036 | - |

активные формы кислорода уменьшают интенсивность полосы при I216 см⁻¹, обусловленный колебаниями С - Н связи /табл.7,8,9/. При этом, в случае синглетного кислорода взаимосвязь между степенью биodeградации поливинилхлорида и изменением интенсивности максимумов ИК-спектров отмечается для полос в области I216, I060 и 960 см⁻¹, а самые значительные изменения отмечены в случае гидроксильного радикала /табл.9/.

Изучение ИК-спектров полиэтилентерефталата показывает, что интенсивность полос в области I720 и I336 см⁻¹ уменьшается в



зависимости от степени биодеградации /табл.10/.

Таким образом, анализ полученных экспериментальных данных по изменению интенсивностей ИК-полос различных полимеров показывает, что все вышеречисленные изменения ИК-полос является характерными для процесса биодеградации, т.е. существует определенная закономерность в изменении структуры полимера до и после воздействия плесневыми грибами.

ЛИТЕРАТУРА

1. ГАРБАШОВ Е.А. БИРКИНА Н.А. ЗАХАРЧУК А.В. КОНКИН Н.И. КУДРЯШОВ В.Е. Влияние климатического старения на радиационную стойкость ПЭТФ.-Пластич.массы, 8, 17-19, 1988
2. ГУДЖАБИДЗЕ А.О. КОШОРИДЗЕ М.И. ШАГИДЗЕ Д.В. РУСИЕШВИЛИ В.Н. ЦАРЦИДЗЕ М.А. Спектрофотометрические исследования биодеградации полиимидных пленок.-Сообщ. АН ГССР, 133, №2, 393-396, 1989
3. ГУДЖАБИДЗЕ А.О. РУСИЕШВИЛИ В.Н. МУДЖИРИ Я.Н. ЦАРЦИДЗЕ М.А. Спектрофотометрическое исследование биоповреждения полиимидных пленок в условиях влажных субтропиков.-Тр. II Респ. конф. "Проблемы экологической биофизики", 30-33, 1987
4. ДЕХАНТ И. ДАНЦ Р. ХИММЕР В. ИК-спектроскопия полимеров. М. Химия, 1976, 471стр.
5. ЛУСЕ И.С. КРЕЙМУС А.Э. КРОНБЕРТ В.И. ВЕВЕРИС А.Г. ИК-спектроскопическое исследование действия грибов бурой глины на древесину сосны, исходную и пропитанную препаратом "эрмит".-Ж. химия древесины, №2, 99-105, 1984
6. ФЕДОРОВА Е.В. и др. Спектроскопия полимеров. Киев, Наукова Думка, под ред. М.В. Волькенштейна, 114-117, 1968
7. ШИМЕНКО Н.А. ШИШКИНА М.В. ИК- и УФ-спектры поглощения ароматических эфиров. Изд-во Наука, 1987, 110 стр.
8. ШУЛЬЖЕНКО Ю.Л. ГОРШКОВ В.С. ГЛОТОВА Н.А. Особенности старения полимерного материала на основе ПСПЭ.-Пласт.массы, 2, 74-76, 1989
9. ЧИХАЧЕВА И.П. и др. Поверхностное модифицирование кремнийсодержащих полимеров под действием плазмы тлеющего разряда.-Пласт.массы, 11, 47-49, 1988
10. ЦОБКАЛДО Е.О. ПЕТРОВА Л.Н. ХАГЕН В. Влияние озона на структуру и механические свойства полиэтиленовой пленки.-Пласт. массы, 9, 18-20, 1988
11. SAAD S.M. ISSA B.M. FAJMY M.S. Study of bagasse pulps.-Holzforschung, 34, 218-222, 1980

РОЛЬ СИСТЕМ НАДЕЖНОСТИ В ФОРМИРОВАНИИ РАДИОУСТОЙЧИВОСТИ ОРГАНИЗМА

И.Н.Гудков, Д.М.Гродзинский

Украинская сельскохозяйственная академия,
Институт клеточной биологии АН УССР, Киев

Устойчивость организма к неблагоприятным воздействиям окружающей среды, свойство сохранять способность к выполнению предопределенных ему функций в условиях существования, отклоняющихся от оптимальных, и даже в экстремальных, несомненно зависят от надежности всех его молекулярных, клеточных, тканевых и органных систем. Поэтому изучение надежности живых систем на всех уровнях организации представляется весьма важным и должно быть предметом самого пристального и внимательного исследования не только биологов, но и представителей других естественных наук: математиков, физиков, химиков самых различных направлений.

Действительно, пришедшая в биологию из математики, теория надежности в значительной степени обогатилась ее комплексными подходами в изучении механизмов устойчивости организмов к действию различных повреждающих агентов, или в терминах надежности — способности обеспечивать бесперебойность эффективного функционирования живой системы в определенном диапазоне заданных условий.

Понятие "устойчивость" и его синонимы "стойкость", "резистентность" обычно используются применительно к действию отдельных факторов: высокой .., наоборот, низкой температурам, обезвоживанию, интенсивности света, низкой концентрации кислорода, химическим веществам, разным типам излучений, в том числе и ионизирующим, и другим. Так, говорят о жароустойчивости, холодоустойчивости, солеустойчивости, радиоустойчивости организма, например, растения. Таким образом, термин "устойчивость" относится лишь к какой-то определенной форме приспособления организма к соответствующим условиям среды и характеризует лишь отдельные стороны системного понятия надежности. Поэтому "надежность" является более общим неспецифическим свойством, которому подчинены в том числе и такие частные случаи, как устойчивость организма к тому или иному воздействию.



Радиостойчивость организма - это, без сомнения, системное понятие. И если это свойство рассматривать как элемент системы надежности, можно заключить, что устойчивость к действию ионизирующих излучений представляет собой способность организма обеспечивать бесперебойность функционирования при облучении в определенном диапазоне доз.

Однако, несмотря на изученное огромное количество самых разнообразных реакций организма на действие ионизирующих излучений от радиационной стимуляции и всевозможных морфологических изменений до отдаленных генетических нарушений, невозможно выделить среди них какие-либо специфические. Даже совершенно уникальное описанное для растений явление радиотропизма не может быть отнесено к специфическому, так как оно определяет неодинаковую степень повреждаемости клеток, находящихся на различном расстоянии от источника облучения.

Поскольку же физиологическая реакция организма на действие ионизирующих излучений является неспецифической, можно предположить, что она существенно не зависит от типа повреждающего агента. Действительно, при действии самых различных факторов, таких как высокие и низкие температуры, химические вещества самой разнообразной природы, разных типов неионизирующей радиации - ультрафиолетового и инфракрасного света, магнитных и электрических полей, микроволнового и высокочастотного облучения и многих других нередко приходится наблюдать весьма сходные реакции организма от уже упомянутой стимуляции при сравнительно невысоких дозах до торможения отдельных процессов метаболизма, деления клеток, роста, развития и гибели при более высоких. При действии многих из перечисленных факторов наблюдаются и нарушения в генетическом аппарате. Впрочем, несомненно, частота возникновения и степень проявления отдельных типов реакций на действие различных факторов могут существенно варьировать.

Фактор, по отношению к которому характеризуется устойчивость, в том числе и устойчивость к ионизирующим излучениям, может выступать в качестве нагрузки для испытания надежности. Среди видов растений, как, впрочем, и среди животных, можно найти крайне радиостойчивые к самым разнообразным факторам, в том числе и ионизирующей радиации. Например, LD_{50} для растений семейства крестоцветных /редька, редис, капуста, рапс, горчица, хрен/ достигает 50-100 Гр. Эти виды также обладают

высокой устойчивостью к перепадам температур, устойчивостью к засолению почвы, ко многим болезням, пестицидам. Хорошо известна высокая устойчивость к различным факторам многих видов синезеленых водорослей, радиоустойчивые виды которых, переносящие дозы до 2-4 кГр, могут жить и размножаться в гейзерах с температурой воды до 80 °С. Необычайно устойчивыми к самым разнообразным повреждающим факторам являются насекомые отрядов паукообразных и таракановых, полуметальные дозы для которых достигают 200-250 Гр.

Следует подчеркнуть, что не только с такими уровнями облучения, но и с дозами ионизирующей радиации в сотни и тысячи раз меньшими, живым организмам в природе, как правило, сталкиваться не приходится. Они могут быть получены только в экспериментальных или других искусственных условиях. И, безусловно, высокая радиоустойчивость этих видов, как, впрочем, и многих других, является неспецифическим проявлением высокой надежности их систем.

Другими словами, проявление устойчивости организма не только к действию ионизирующих излучений, но и другим искусственным факторам обусловлено функционированием неспецифических систем надежности либо сходных по отношению к какому-либо естественному фактору /например, ультрафиолетовой радиации/ механизмов устойчивости. Но скорее всего в основе устойчивости к искусственным факторам должно лежать сходство форм начальных повреждений, которые вызываются естественными и искусственными агентами.

Именно поэтому следует считать, что механизмы надежности носят более фундаментальный характер, чем механизмы устойчивости организма к каким-либо отдельным факторам. Системы, обеспечивающие устойчивость, по-видимому, дополняют системы надежности, благодаря чему расширяются приспособительные возможности вида, становится более широким ареал его распространения, возникают предпосылки для его прогрессивной эволюции. В связи с этим оценка устойчивости организма к тем или иным факторам может оказаться весьма полезной для расширения механизмов, обеспечивающих их надежность.

И без сомнения, радиоустойчивость организма определяется его неспецифическими структурными и функциональными особенностями не реагировать до определенного уровня на повреждение вообще и ликвидировать повреждение после его возникновения. В



терминах теории надежности они получили название стабилизирующей и восстанавливающей надежности.

Основой обоих путей обеспечения надежности является резервирование — совершенно обычное явление для всех уровней организации биологических систем, начиная с дубликации кодонов и множественности органоидов на уровне молекул и клеток, и кончая дублированием различных органов на уровне организма, множественностью организмов на уровне популяции. И как свидетельствует история науки об устойчивости живых организмов к различным повреждающим воздействиям, и как это подтверждено наукой о сложных технических системах, замена вышедшего из строя элемента другим является наиболее эффективным путем сохранения функционирования системы.

Особым многообразием характеризуется резервирование у высших растений, как правило прикрепленной к субстрату малоподвижной и поэтому более уязвимой формы живых организмов, многие виды которых, по крайней мере на клеточном и тканевом уровнях характеризуются не высокой устойчивостью ко многим повреждающим воздействиям:

СТРУКТУРНОЕ РЕЗЕРВИРОВАНИЕ У ВЫСШИХ РАСТЕНИЙ [I]

| <u>Уровень биосистемы</u> | <u>Наименование резерва</u> |
|-------------------------------|--|
| Геном | Диплодия, полиплодия, амплифицированные гены. |
| Мембранная организация | Резервы мембранного потока. |
| Метаболизм | Компартментализация, избыточность ферментативной активности, резервные метаболиты. |
| Клеточные органеллы | Избыточность митохондрий, хлоропластов и других пластид. |
| Клеточная популяция меристемы | Избыточность реальных и потенциальных инициалей /покоящийся центр/. |
| Образовательные ткани | Покоящиеся почки, потенциальные меристемы. |



| | |
|--------------------|--|
| Целостное растение | Избыточность пыльцы органов вегетативного размножения. |
| Популяция растений | Множественность особей. |
| Ситоценоз | Множественность видов. |

За исключением уровней клеточной популяции меристемы и образовательных тканей приведенные виды структурного резервирования характерны для большинства многоклеточных организмов. Впрочем, для некоторых организмов можно найти аналоги, обладающие подобными резервами и на отмеченных уровнях организации биосистемы.

Структурное резервирование является основой не только стабилизирующей надежности, но и восстанавливающей. Именно оно обеспечивает возможность пострадиационного восстановления на различных уровнях организации:

ТИПЫ ВОССТАНОВЛЕНИЯ ВЫСШИХ РАСТЕНИЙ [2]

| <u>Тип восстановления</u> | <u>Уровень организации</u> |
|-------------------------------|--|
| Репарация | Восстановление молекул и клеточных структур. |
| Репопуляция | Размножение клеток, находящихся в радиостойчивых фазах клеточного цикла и вне цикла. |
| Регенерация | Пролиферация покоящихся тканей и органов. |
| Компенсаторное восстановление | Усиление функций, дедифференциация специализированных клеток и тканей. |

В основе всех типов восстановления также лежит дублирование. В основе репарации — дублирование полинуклеотидных цепей ДНК и множественность клеточных структур; в основе репопуляции — гетерогенность клеточных популяций постоянно обновляющихся тканей, обеспечивающая наличие в них клеток, находящихся в различных периодах и фазах клеточного цикла, в том числе и на радиостойчивых и вне цикла; в основе регенерации



- ткани и органы, клетки которых находятся в состоянии покоя; в основе компенсаторного восстановления - резервирование потенциальных возможностей отдельных элементов системы /молекул, клеток, органов и других/, позволяющее увеличивать на какой-то ограниченный период напряженность системы на самых разных уровнях ее организации, ускорять темп процессов, усиливать определенные функции при утрате или ослаблении процессов или функций у других элементов.

Наиболее мощным механизмом восстановления, которым природа, в отличие от других организмов, снабдила высшие растения, возможно, по уже упомянутой причине их неспособности укрыться от повреждающего агента, - это способность к регенерации.

В основе регенерации лежит активация пролиферации покоящихся тканей и органов, которые могут превращаться в образовательные ткани /меристемы/ либо являются таковыми, но до определенного момента находятся в неактивном состоянии. Это происходит тогда, когда при гибели верхушечной почки побега, либо даже значительной части побега, независимо от причин /усыхание, отморозание механическое повреждение, гибель в результате облучения понижующей или недонизирующей радиацией/, вступают в пролиферацию покоящиеся ткани и органы, которые дают начало возникновению нового побега.

В растении имеется много самых разнообразных тканей, ответственных за процессы регенерации. Так, корни могут возникать из клеток перикарпа, коры, эпидермальных клеток. Но особенно эффективно происходит регенерация корня из клеток покоящегося центра. Нередки случаи регенерации клеток листьев, где имеются участки покоящихся меристем в субэпидермальных лоях клеток формирующегося листа.

Без сомнения, в основе регенерации лежат неспецифические эволюционно возникшие как защитные приспособления явления, расширяющие допустимые пределы изменений среды обитания растительного организма, эффективные при действии любого повреждающего агента. И хотя у животных также проявляется способность к регенерации, а у некоторых видов, например, у ящериц, она выражена довольно сильно, ни один из представителей животного мира не способен к регенерации в такой мере, как растение.

Впрочем, в основе и других механизмов, обеспечивающих пострадиационное восстановление растений, как и других орга-

низмов, лежат неспецифические реакции, сходные с таковыми и при действии других повреждающих факторов. Не вызывает сомнений, что они были сформированы в ходе эволюции для устранения повреждений на различных уровнях организации биосистем, независимо от природы повреждающего воздействия.

Как видим, радиоустойчивость организмов самым тесным образом сопряжена с их надежностью. Но, безусловно, проводить прямой параллели между радиоустойчивостью и надежностью нельзя, так как не всегда надежность вида обуславливает высокую его устойчивость ко всем повреждающим воздействиям. Тем не менее, организмы, обладающие высокой надежностью, как правило, характеризуются высокой устойчивостью ко многим факторам среды, в том числе и ионизирующей радиации. Применение надежного подхода позволяет выявить еще нереализованные возможности увеличения устойчивости к тому или иному повреждающему агенту. В этом по нашему мнению, состоит основной смысл привлечения понятий и терминов надежности к исследованию механизмов устойчивости живых систем к действию ионизирующих излучений.

Литература

1. Гродзинский Д.М. Надежность растительных систем. - Киев: Наук. думка, 1983. - 367 с.
2. Гудков И.Н. Клеточные механизмы пострадиационного восстановления растений. - Киев: Наук. думка, 1985. - 223 с.

РОЛЬ ИОНОВ Mn В СЕРИЭНТАТИВНОМ РАСЩЕПЛЕНИИ
ЦЕЛЛЮЗЫ ГРИБОМ *ASPERGILLUS NIGER*

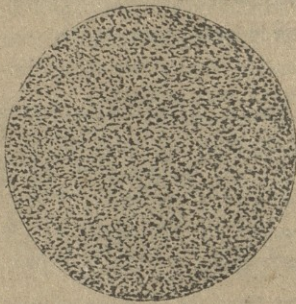
Р.Х.Дабасс, Т.Т.Домсадзе, П.Р.Тушурашвили, Б.А.Домсадзе
Биологический факультет Тбилисского государственного
университета, кафедра биофизики

Целлюлоза является, пожалуй, самым распространенным биополимером в природе. Согласно современным представлениям расщепление целлюлозы катализируется т.н. целлюлазным комплексом. Целлюлазный комплекс представляет собой конгломерат нескольких ферментов, которые в зависимости от организма и условий культивирования могут быть организованы в виде белковых конгломератов.

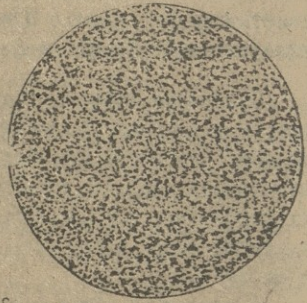
В последнее время появляется все больше данных о том, что в расщеплении целлюлозы принимают участие и окислительные ферменты. Так, например, в работах /1/, /2/ было показано, что гидролиз целлюлозы ускоряется в атмосфере кислорода, а в работе /3/ был выделен фермент, способный окислять целлотриозу и целлотетраозу.

Мы решили выяснить, участвуют ли окислительные процессы в расщеплении целлюлозы, катализируемой грибом *Asp.niger*. Так как многие катионы участвуют в работе окислительных ферментов, мы решили выяснить, могут ли некоторые из них ускорять процесс деградации целлюлозы. Ниже приведены данные, которые показывают, что ионы Mn являются специфичными активаторами расщепления целлюлозы.

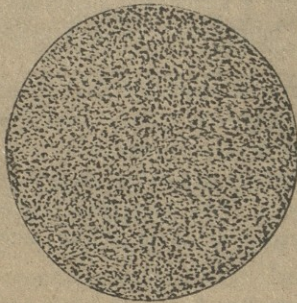
Материалы и методы исследования: Культуру гриба *Asp.niger* выращивали в среде Чапека. Использовали 200 мл раствора, в который вносили соответствующий источник углерода. Колбы инкубировали в термостате при $28^{\circ}C$. При необходимости отбирали пробы, и оставшуюся часть инкубировали дальше. Концентрацию белка определяли методом Лоури, после осаждения белка 10%-ным раствором ТХУ и последующего центрифугирования из фильтрата культуры /4/. Фильтрат культуры гриба получали следующим образом: аликвоту пробы фильтровали через три слоя марли и затем центрифугировали при 15000 в 40 минут. Небольшой осадок отбрасывали, а супернатант собирали и использовали в дальнейших опытах. Глюкозу определяли согласно методу /5/.



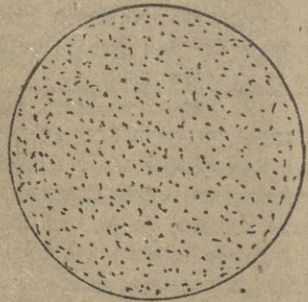
1



2



3



4

Табл. I.

Влияние ионов на разрушение целлюлозы
1- глюкоза 2 - глюкоза + Mn 3 - целлюлоза + Mn
4- целлюлоза



Результаты и их обсуждение: Используя различные источники углерода, было показано, что ионы Mn стимулируют рост культуры гриба только при использовании целлюлозы в качестве единственного источника (см. рис. 1). Контрольные эксперименты, проведенные с солями Fe , Cr , Co , Mg , Ca , Na и K , показали, что ионы Mn являются специфическими активаторами разрушения целлюлозы как для культуры гриба, так и при использовании бесклеточного фильтрата культуры гриба.

На рис. 2 (кривая 1) показана зависимость скорости роста культуры гриба от концентрации ионов Mn в среде питания. Как следует из данных, приведенных на рис. 2, зависимость является кривой с насыщением, а 50%-ный эффект наблюдается при концентрации Mn , равной 5 мМ. Увеличение скорости роста культуры гриба, строго говоря, не доказывает увеличение скорости разрушения целлюлозы, по крайней мере активности ферментов, разрушающих целлюлозу, так как возможно и механическое разрушение целлюлозы. В связи с этим, мы исследовали действие фильтрата культуры гриба *Asp. niger* на фильтровальную бумагу в присутствии ионов Mn . Результирующая кривая показана на рис. 2 (кривая 2). Как видно из приведенных данных, зависимость выхода глюкозы от ионов Mn носит гиперболический характер а 50%-ный эффект наблюдается при концентрации ионов Mn , равной 8 мМ. Наблюдаемое различие может быть связано с несколькими возможностями: во-первых, в процессе разрушения целлюлозы могут принять участие как внеклеточные, так и внутриклеточные ферменты, зависящие от ионов Mn процесс, во-вторых, нельзя исключать возможности изменения структуры целлюлозы под действием ионов Mn , в результате чего целлюлоза (как субстрат реакции) становится более доступной для ферментов. Для того, чтобы проверить роль влияния ионов Mn на структуру целлюлозы, мы решили поступить следующим образом: если изменяется структура целлюлозы (напр., разрушаются межцепочечные водородные связи), то доступность целлюлозы увеличивается практически для всех ферментов, способных разрушать целлюлозу, независимо от получаемого источника. Поэтому мы решили выяснить, каким образом будут влиять ионы Mn на работу фирменного препарата целлюлазного комплекса *Asp. niger*. В специальных экспериментах мы показали, что ионы Mn увеличивают выход глюкозы из фильтровальной бумаги, катализируемой целлюлазным комплексом, на 30%, что явно недос-

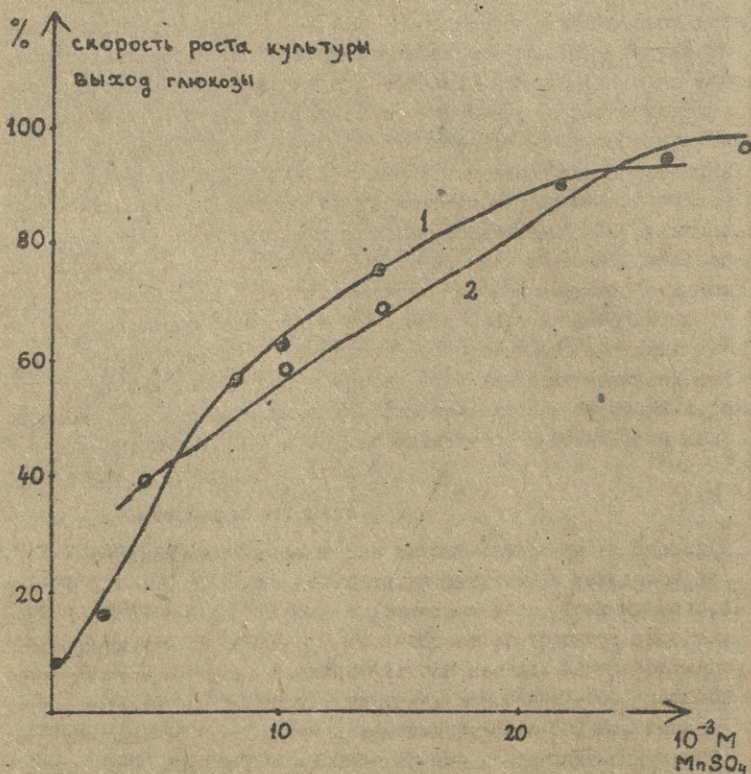


Рис 2
Зависимость скорости роста культуры гриба и выхода
глюкозы от концентрации ионов

точно для объяснения почти 7-кратного увеличения в случае использования фильтрата культуры гриба. Таким образом, становится очевидным, что влияние ионов Mn нельзя объяснить только увеличением активности целлюлазного комплекса, или только изменением структуры целлюлозы, понятно, что должен существовать механизм, отличный от гидролизного, который активируется ионами Mn . Таким процессом нам представляется процесс окисления целлюлозы, который может катализироваться соответствующими оксидазами и пероксидазами, или же идти неферментативно /6/. Указанием на существование ферментативного окислительного процесса деградации целлюлозы может служить тот факт, что 2 мМ KCN частично ингибирует образование глюкозы из фильтровальной бумаги при использовании фильтрата культуры гриба в качестве ферментного препарата и не влияет при использовании фирменного препарата целлюлазного комплекса. Однако требуются дальнейшие исследования для выяснения механизма этого процесса.

Л и т е р а т у р а

1. Eriksson K.E. FEBS Lett., 1975. Vol.49. - P.282.
2. Eriksson K.-E. Biotechnol. and Bioeng. Symp., 1978. Vol. 20. - P.317.
3. Ayers J. et al. Eur. J. Biochem., 1978. Vol.90. - P.171.
4. Lowry O. et al. J.Bio.Chem., 1951, 193. - P.265-275.
5. Nelson H. J.Biol.Chem., 1944. Vol.153. - P.375.
6. Highley T. For.Prod.J., 1975. Vol.25. - P.36-39.

ДЕЙСТВИЕ РАДИОПРОТЕКТИВНЫХ ПРЕПАРАТОВ НА АКТИВНОСТЬ Mg, Ca - АТФАЗЫ

Дворецкий А.И., Егорова Е.Г.

НИИ биологии Днепропетровского госуниверситета

Созданию биохимического фона повышенной радиорезистентности организма предшествует глубокое изменение протекания различных метаболических реакций клетки в результате действия радиопротекторов [1 - 3]. Не исключено, что в этот процесс вовлекаются также мембраносвязанные ферменты, регулирующие многочисленные функции и метаболизм клетки. Одним из таких ферментов, регулирующих гомеостаз ионов Ca в клетке, является Mg, Ca -АТФаза [4 - 6]. В настоящее время сформулировано представление об ионах кальция как вторичном посреднике, обеспечивающем реализацию внутриклеточной функции при действии на клетку разнообразных внешних воздействий [1], включая, по-видимому, и радиопротекторы. Ранее нами показано, что под влиянием летальных и сверхлетальных доз ионизирующей радиации активность этого фермента в мембранах мозга и эритроцитов крыс ингибируется [7]. Учитывая это и с целью изыскания путей повышения устойчивости организма к действию ионизирующей радиации, исследовали влияние радиопротекторов серотонина, дофамина, гистамина, МЭА и АЭТ на активность Mg, Ca -АТФазы мембран мозга и эритроцитов крыс.

Материал и методика.

Исследования проводили на крысах-самцах линии Вистар массой 120-150 г. После декапитации животных в холодильной камере (+ 4°C) собирали кровь и извлекали мозг. Фракцию мембран мозга выделяли по методу [8]. Мембраны эритроцитов выделяли общепринятым методом. Радиопротекторы вводили внутривенно из расчета (мг на кг веса): гистамин основание -100, дофамин гидрохлорид -90, серотонин креатининсульфат -60, МЭА гидрохлорид -150, АЭТ $Br \cdot HBr$ -250 за 15 мин до декапитации животного. Радиопротекторы *in vitro* добавляли в среду инкубации (в М): серотонин, дофамин и гистамин $5 \cdot 10^{-4}$, МЭА и АЭТ $5 \cdot 10^{-3}$. Активность Mg, Ca -АТФазы определяли в среде инкубации, содержащей (в мМ): АТФ Na_2 -1.5, $MgCl_2$ -6, трис-НСI буфера - (рН 7.4) - 37.5, КСI -100, $CaCl_2$ -0.01, ЭДТА -1, строфантин В



О.И. Ферментный препарат вносили в концентрации 100 мкг белка. Белок определяли по Лоури. Неорганический фосфор определяли по [9]. Данные экспериментов обрабатывали статистически с использованием ЭВМ СМ-4. Различия между сравниваемыми рядами считали достоверными при значениях $p \leq 0.05$.

Результаты и обсуждение.

Как следует из данных, приведенных в таблице I, внутрибрюшинная инъекция радиопротекторов серотонина, дофамина, гистамина, МЭА и АЭТ не изменяла активность Mg, Ca -АТФазы мембран мозга через 15 минут после введения. При исследовании влияния этих же средств на активность Mg, Ca -АТФазы мембран эритроцитов достоверное снижение активности фермента (на 19%) было отмечено для серотонина, в остальных случаях Mg, Ca -АТФазная активность находилась в пределах контрольных величин.

Таблица I.

Активность Mg, Ca -АТФазы через 15 минут после внутрибрюшинного введения радиопротекторов (% к контролю).

| Источник фермента | МЭА, 150 мг/кг | АЭТ, 250 мг/кг | Серотонин, 60 мг/кг | Дофамин, 90 мг/кг | Гистамин, 100 мг/кг |
|-------------------------------|----------------------------|-----------------------------|-----------------------------|-----------------------------|-----------------------------|
| Мембраны эритроцитов | 98.24 [±] 3.02 | 100.00 [±] 0.41 | 80.70 [±] 2.69* | 102.59 [±] 1.33 | 100.34 [±] 5.84 |
| Мембраны коры головного мозга | 88.71 [±] 4.84 | 90.83 [±] 4.14 | 95.58 [±] 6.02 | 102.00 [±] 6.83 | 95.03 [±] 3.40 |

* - достоверно относительно контроля

Исследование влияния радиопротекторов на активность Mg, Ca -АТФазы мембран мозга и эритроцитов крыс *in vitro* (табл. 2), показало, что радиопротекторы МЭА, серотонин, гистамин и дофамин в радиозащитных дозах не изменяют активность фермента мембран эритроцитов за исключением АЭТ, который увеличивал активность Mg, Ca -АТФазы.

Таблица 2.

Влияние радиопротекторов *in vitro* на активность Mg, Ca - АТФазы (% к контролю)

| Источник фермента | МЭА, $5 \cdot 10^{-3}$ М | АЭТ, $5 \cdot 10^{-3}$ М | Серотонин, $5 \cdot 10^{-4}$ М | Гистамин, $5 \cdot 10^{-4}$ М | Дофамин, $5 \cdot 10^{-4}$ М |
|-------------------------------|-----------------------------|------------------------------|--------------------------------|-------------------------------|------------------------------|
| Мембраны эритроцитов | 98.79 \pm 2.45 | 106.96 \pm 2.33 ** | 98.18 \pm 2.06 | 98.43 \pm 2.47 | 100.87 \pm 3.06 |
| Мембраны коры головного мозга | 42.74 \pm 3.17 ** | 86.02 \pm 3.17 ** | 125.07 \pm 6.07 ** | 99.47 \pm 6.33 | 145.38 \pm 7.39 ** |

* - достоверно относительно контроля

Активность Mg, Ca -АТФазы мембран головного мозга изменяется под влиянием МЭА, АЭТ, серотонина и дофамина. Причем действие этих веществ было разнонаправлено. Так, МЭА и АЭТ снижали активность фермента на 57% и 13% соответственно, а биогенные амины увеличивали активность Mg, Ca -АТФазы: на 25% серотонин и на 45% дофамин.

Различие в действии изученных в двух сериях опытов радиопротекторов, по-видимому, связано с тем, что данные вещества метаболизируют в организме или отмываются в процессе выделения мембранных препаратов. Поэтому в опытах *in vivo* мы не улавливали их действия на функционирующее Ca -насоса. Наблюдаемые *in vitro* более выраженные эффекты, вероятно, в значительной степени связаны со спецификой их действия на мембрану.

Литература

1. Гончаренко Е.И., Кудряшов Д.Б. Гипотеза эндогенного фона р-дибрезистентности. М.: Изд-во МГУ, 1980. 176 с.
2. Граевский Э.Я. Сульфгидрильные группы и радиочувствительность. М.: Атомиздат, 1969. 144 с.
3. Романцев Е.Ф., Блохин В.Д., Жуланова З.И. и др. Биохимические основы действия радиопротекторов. М.: Атомиздат, 1980. 168 с.
4. Богач П.Г., Курский М.Д., Кучеренко Н.Е. и др. Структура и функции биологических мембран. Киев: Выща школа, 1981. 336 с.

5. Ташмухамедов Б.Я., Гагельганс А.И. Активный транспорт ионов через биологические мембраны. Ташкент: ФАН УзССР, 1973. 22 с.
6. Орлов С.Н. // Успехи соврем. биол. 1981. Т.92, вып.1. С.19-34.
7. Дворецкий А.И., Ивашко С.В. // Радиобиология. 1987. Т.27, вып. 4, С.547-548.
8. Daly J.W., Partington G.R. // Proc. 4th Internat. Catecholamine Sympos. V-I N.Y. : California Pacific Grove. 1978. P. 520 - 522.
9. Taubsky H., Short E. // J. Biol. Chem. 1953. V.202, N 2. P. 675-685.

БИОХИМИЧЕСКИЕ МЕХАНИЗМЫ УСТОЙЧИВОСТИ СРЕДНЕАЗИАТСКОЙ ЧЕРЕПАХИ

К ЭКСТРЕМАЛЬНЫМ ВОЗДЕЙСТВИЯМ

Иванов В.И., Турднєв А.А.

Институт биохимии АН УзССР, Ташкент

В системе теоретических и практических проблем, раскрывающих взаимоотношения организма и среды, к числу наиболее актуальных относится проблема экологической устойчивости. Несмотря на интенсивную разработку этой важной проблемы, многие вопросы остаются пока не выясненными и требуют своего решения. Так, весьма актуальным остается исследование биохимизма феномена устойчивости.

Наименее исследованными в биохимических механизмах устойчивости остаются липиды биологических мембран. До настоящего времени недостаточно изучены сдвиги липидного метаболизма в экстремальных условиях даже для центрального органа липогенеза — печени. Во многом неясна роль липидов в процессах видовой устойчивости и репарации повреждений биомембран, индуцированных нелучевыми воздействиями.

В свою очередь, незнание критериев и эколого-биохимических механизмов устойчивости сдерживает решение проблем, связанных с целенаправленным управлением этим процессом и изысканием научно обоснованных средств повышения резистентности организма к действию различных факторов и ионизирующего излучения в частности.

Представляется очевидным, что решение задач этой исключительно важной проблемы тесно связано с глубоким изучением молекулярной организации клеточных мембран у биологических объектов, обладающих выраженной устойчивостью к поражающему действию экстремальных факторов.

Предшествующими работами [1] была показана целесообразность филогенетического подхода к выяснению цитозкологических взаимоотношений в экстремальных условиях. В этом плане особый интерес представляет феномен уникальной радиорезистентности среднеазиатских черепах *Testudo horsfieldi*.

Целью данной работы является анализ состояния липидов биомембран при экстремальных воздействиях у черепах, обладающих эффективными системами жизнеобеспечения, а также поиск путей управления радиорезистентностью.



Для достижения цели пользовались комплексом методов современной биохимии и биофизики, который включает: дифференциальное центрифугирование, спектрофотометрию, полярографию, тонкослойную и газожидкостную хроматографию.

В работе были использованы 500 крыс, 1200 мышей и 520 черепах.

В таблице I представлены экстремальные факторы, использованные в экспериментах.

Т а б л и ц а I

| № п/п | Ф а к т о р | С ъ е к т | С т е п е н ь в о з д е й с т в и я, д о з а |
|-------|--|----------------------------|---|
| 1. | Длительная аноксия | Черепахи | От 15 мин до II часов |
| 2. | Температурный стресс | Черепахи | 0 - +40°C |
| 3. | Ионизирующее излучение | Крысы, мыши черепахи | 8,0 - 8,5 Гр 100 - 1000 Гр |
| 4. | Аноксия + γ -облучение | Черепахи | 5 часов 30 мин 42Г Гр |
| 5. | Хронический иммобилизационный стресс + γ -облучение | Крысы | 4 недели гипокинезии 8 Гр |
| 6. | Интенсивная мышечная деятельность - бег субмаксимальной интенсивности на тротуаре | Крысы | Предельная длительность до истощения. Скорость 32 м/мин. |
| 7. | Постлучевой терапевтический эффект экзогенного радиомодификатора из селезенки черепахи | Крысы Мыши | 8,0 Гр; через 2 часа интранициально по 200 мкг в 0,5 мл физ. раствора на I животное |

К числу факторов, способных увеличивать устойчивость к радиации, относятся: гипоксия, гипотермия и некоторые другие, механизм действия которых сводится к снижению содержания кислорода в тканях животных [2]. Объектом, устойчивым к поражающему действию всех этих факторов, является среднеазиатская черепаха.

Наряду с высокой радиорезистентностью (LD_{50/30} = 500 Гр), черепахи способны длительное время находиться в бескислородной среде - более II часов. Помимо этого черепаха легко переносит охлаждение тела до +10°C и перегрев до 37°C. К этим ее достоинствам следует отнести также наличие в селезенке фактора, оказывающего значительный радиотерапевтический эффект на летально облученных мышей.

Можно полагать, что столь широкий диапазон переносимых че-



Институт зоологии и физиологии
Животных Академии наук СССР

репахой воздействием, по всей видимости, связан не только с биологическими или поведенческими реакциями, но и уникальными по своей пластичности биохимическими механизмами, в основе которых может лежать изначальное физико-химическое состояние липидного матрикса биологических мембран.

Нам было выяснено, что у черепахи в 1 г сырой ткани печени содержится липидов в 3,2 раза больше, чем у крысы. Общее количество мембраносвязанных липидов в 1 г сырой ткани печени у черепахи составляет 24,8%, а у крысы - 95,1% от суммарного содержания липидов. Вместе с тем в ткани печени черепахи в большом количестве присутствуют неструктурные липидные включения. Они в основном представлены триацилглицеринами и составляют 75,2% от суммы липидов в 1 г сырой ткани печени. У крысы в 49,3 раза меньше.

Рассмотрим особенности мембранных липидов печени черепахи на примере микросомальных липидов.

Липиды микросомальных мембран печени черепахи представлены фосфолипидами и нейтральными липидами. Сходный состав общих липидов обнаружен и в микросомах печени крысы. Так, СМ составляет 23,95% против 11,26% в микросомах печени крысы. Глицерофосфолипиды микросом печени черепах содержат приблизительно равное количество ФХ и ФСА, тогда как у крысы наиболее массовой является фракция ФХ - 64,15%. Отношение кислых фосфолипидов к нейтральным у черепахи равно 0,94, а у крысы - 0,32. Сопоставление результатов собственных исследований и данных литературы показывает, что в полиненасыщенности фосфолипидов микросом печени позвоночных имеются существенные различия, причем у черепахи и кролика выявляется низкий, а у крысы - высокий процент длинноцепочечных полиненасыщенных жирных кислот. В этом ряду человек занимает промежуточное положение [3].

Данные, полученные в опытах по акклимации черепашек к среде обитания, показывают, что температурные условия значительно влияют на состав углеводородных компонентов большинства липидов биологических мембран.

Так, индекс ненасыщенности суммарных фосфолипидов при охлаждении тела с 25 до 10°C увеличивается с 91,6 до 139,2. Таким образом увеличивается текучесть липидной фазы мембран. Это происходит в основном за счет увеличения уровня таких полиненасыщенных жирных кислот, как линолевая и арахидоновая.

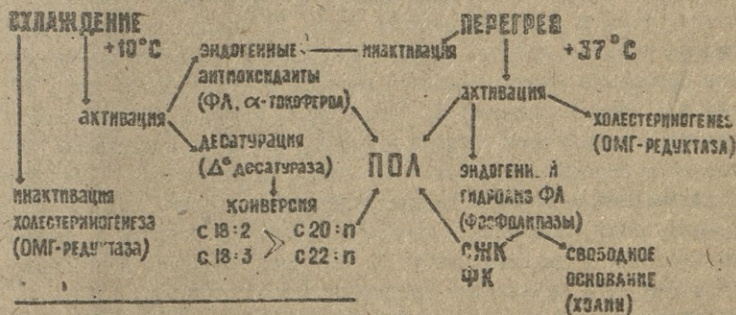
Есть еще один способ регулировать фазовое состояние мембран. Увеличение уровня холестерина в мембранах в большинстве случаев оказывает конденсирующий эффект, уменьшая жидкость мембран, т.е. имитируется процесс увеличения насыщенности жирных кислот [4].

В наших опытах уровень холестерина при нагреве тела от 10 до 37°C увеличивается почти в 2 раза. Важную роль в регуляции вязкости мембран играет ПОЛ.

С повышением температуры тела в МКС гепатоцитов черепах значительно возрастает уровень ПОЛ. При этом в крови резко снижается коррелятивная связь: продукты ПОЛ - антиоксиданты (α -токоферол). Полученные данные свидетельствуют, что черепахи быстро и обратимо изменяют ненасыщенность структурных липидов, интенсивность процессов ПОЛ, уровень холестерина в условиях эвритермии и, таким образом, способны модулировать необходимое для жизнедеятельности фазовое состояние мембран.

Наши предстарения о возможных превращениях мембранных липидов при адаптации черепах к изменяющимся температурным условиям систематизированы в следующей схеме.

СХЕМА ВЕРОЯТНЫХ ПРЕВРАЩЕНИЙ ЛИПИДОВ ПРИ ТЕМПЕРАТУРНОЙ АДАПТАЦИИ В МИКРОСЪЕМАХ ТЕПАТОЦИТОВ ЧЕРЕПАХИ



Сохранение микрокристаллического состояния мембранного матрикса

Уплотнение мембранного матрикса. Конденсирующий эффект.



26 09 57 22 0
512 21101533

Наблюдаемое увеличение ненасыщенности липидов при охлаждении достигается большей частью предпочтительным синтезом ненасыщенных жирнокислотных цепей. По данным Моренс и сотр. [5] у пойкилотермов ключевой регулирующей ступенью в биосинтезе длинноцепочечных полиненасыщенных жирных кислот является Δ^6 десатураза, действующая на линолеву и линоленову кислоты. Активность этого фермента возрастает при низких температурах [6].

При воздействии холода инактивируется синтез ХД на стадии восстановления β -оксиметилглутарил-КоА до мевалоновой кислоты ферментом оксиметилглутарил-КоА-редуктазой - ОМГ-редуктазой.

Температурная акклимация к повышенным температурам требует определенного механизма для быстрой разборки вновь синтезированных жирных кислот, а также для СЖК, которые высвобождаются в результате температурозависимого фосфолипидного гидролиза. Для этой цели служит универсальный механизм ПОД. При нагреве происходит активация ОМГ-редуктазы - усиление синтеза холестерина.

Таким образом, на основании результатов, полученных в наших экспериментах, и анализа данных литературы о превращениях липидов в микросомальных мембранах при компенсации температурных эффектов у пойкилотермных животных можно утверждать, что одним из механизмов адаптации к изменяющимся температурам среды у черепах является наличие системы регулирования вязкости липидов биомембран.

Показано, что черепаха выживает в атмосфере газообразного азота, т.е. в условиях аноксии более 11 часов, тогда как крыса гибнет через 4 минуты. Аноксия вызывает у черепахи значительное повышение уровня молочной кислоты в крови более чем в 20 раз к 9 часу эксперимента. Параллельно почти в 10 раз увеличивается концентрация глюкозы в крови. При этом содержание гликогена в печени снижается в 4,1 раза. На основании проведенных исследований и анализа данных литературы сделано предположение о вовлечении гликолиза в процессы выработки энергии в организме черепахи в условиях аноксии. Это предположение подтверждается тем, что применение специфического ингибитора гликолиза - монофосфата гликолевой кислоты, действующего на уровне окисления фосфоглицеральдегида в условиях дыхания азотом приводит к гибели животных уже через 14 минут.

Прекращение доступа кислорода приводит к снижению его кон-



центрации в тканях. Это должно приводить к торможению ЦОЛ. Однако, через час аноксии в микросомах печени черепах преобладают неферментативные процессы ЦОЛ - усиливается аскорбат-зависимое окисление, увеличивается количество конъюгированных диенов и диенкетонов. В основном окисляются полиеновые кислоты ФЗА и ФХ, в частности арахидоновая, уровень которой значительно снижается в этих фракциях.

Проведенные исследования позволяют заключить, что высокая видовая резистентность черепахи к условиям аноксии является одной из специфически сложившихся в процессе филогенеза форм адаптации, биохимический механизм которой в основном объясняется вовлечением глицеролиза в процессы выработки энергии в условиях аноксии. Важное значение имеет также стабильность липидного состава мембранных компонентов клетки черепахи.

Изучение влияния длительной предлучевой, тотальной аноксии до сих пор не представлялось возможным из-за отсутствия среди традиционных для лабораторных экспериментов животных, способных длительное время существовать в бескислородной среде и выдерживать высокие радиационные нагрузки. Как следует из вышеизложенного, этими свойствами в полной мере обладает среднеазиатская черепаха. У черепах, облученных в дозе 420 Гр, в условиях нормоксии на протяжении 30 суток постлучевого периода, наблюдается колебание уровней содержания структурных липидов микросом печени, степени их насыщенности. Это свидетельствует о том, что системы активации липогенеза при дозе 420 Гр не нарушены. В обеих группах наблюдается в основном сходная тенденция к снижению или повышению количества липидов. Но протекают эти процессы на разных уровнях. Так, содержание холестерина в МПС печени колеблется со значительным размахом у животных, облученных в условиях нормоксии, принимая максимальное значение на 5 и 30 сутки, а при облучении в условиях аноксии I и 20-е сутки характеризуются минимальным уровнем холестерина. Изменения в количестве эфиров холестерина в обеих группах однонаправлены.

Таким образом, можно полагать, что длительная предлучевая аноксия подавляет активационное влияние облучения на холестериногенез в микросомах гепатоцитов, тогда как у незащищенных черепах та же доза значительно увеличивает содержание холестерина и его эфиров в эндоплазматическом ретикулуме. Установ-



лено, что на I-10 сутки постлучевого периода у черепаховых в условиях аноксии, характерных для лучевой патологии разрывов цепей полиненасыщенных жирных кислот микросомальных мембран не обнаружено, о чем свидетельствует снижение содержания промежуточных продуктов ПОЛ - диеновых кетонов. В эти же сроки отмечается снижение полиненасыщенности суммарных фосфолипидов МКС печени в 1,3 раза в основном за счет падения уровня арахидоновой кислоты. Реализация лучевого эффекта у аноксированных черепахов начинается лишь на 30 сутки наблюдения, когда уровень диеновых кетонов повышается в 1,6 раза, но даже к 45 суткам количество выживших аноксированных животных равно 80% против 5% у облученных в нормоксии. Можно заключить, что у черепахов, не защищенных аноксией, ведущая роль в радиационной стимуляции липогенеза, по-видимому, принадлежит холестерину, как у млекопитающих, а отставленный эффект воздействия ионизирующей радиации у облученных в условиях аноксии животных в значительной мере связан со снижением интенсивности процессов ПОЛ, предотвращением накопления холестерина, его эфиров, лизофосфолипидов, снижением полиненасыщенности суммарных фосфолипидов в первую декаду после облучения, что несомненно препятствует более серьезному лучевому поражению биомембран.

ЛИТЕРАТУРА

1. Хамидов Д.Х., Турдиев А.А., Нишанбаев К.Н., Акилов А.Т. Кровь и кроветворение позвоночных при лучевых поражениях. - Ташкент: ФАН, 1986. - 176 с.
2. Армоненко С.П., Войнсон А.А., Лагдон Э. Кислородный эффект и лучевая терапия опухолей. - М.: Медицина, 1980. - С.248.
3. Waskell L., Koblin D., Canova-Davis E. The lipid composition of human liver microsomes //Lipids.-1982.-V.17.-N4.-P.317-320.
4. Demel R.A., B.de Kruyff. The function of sterols in membranes // Biochem.Biophys.Acta.-1976.-V.457.-N2.-P.109-132.
5. Moreno V.I., Morel I.E.A., Brenner. Fatty acid metabolism in the Ctenoid Copepod Paracalanus parvus. I.Polyunsaturated fatty acids //Lipids.-1979.-V.14.-N4.-P.313-317.
6. Kasai R., Kitajima Y., Martin C.E., Norava Y., Skriver L.,

Thompson G.A. Molecular control of membrane properties during temperature acclimation. Membrane fluidity regulation of fatty acid desaturase action? // Biochemistry.-1976.- V.15.-#24.-P.5228-5237.

АНТИОКСИДАТЕЛЬНЫЕ ФЕРМЕНТЫ В ЭМБРИОГЕНЕЗЕ РЫБ

А.Р.Исуев

Тбилисский государственный университет

Изучение свободнорадикального перекисного окисления липидов в раннем онтогенезе и его ферментативной регуляции представляет интерес для выяснения механизмов изменения устойчивости зародышей в процессе эмбриогенеза. Согласно свободнорадикальной концепции, свободным радикалам и продуктам перекисного окисления липидов принадлежит ключевая роль в этиологии различных болезней, в повреждении генетического аппарата клетки и биомембран. Регуляция процессов перекисного окисления липидов в клетке может осуществляться при участии антиоксидантных ферментных систем, детоксицирующих активные формы кислорода — супероксиддисмутазы (СОД), каталазы, глутатионпероксидазы (ГП).

В предыдущих наших работах (1,2) было изучено изменение суммарной антиоксидательной активности липидов, токоферолов и убихинона Q_{10} в процессе эмбриогенеза рыб. Что же касается антиоксидательных ферментов таких как, супероксиддисмутазы, глутатионпероксидазы и каталазы, то они до настоящего времени в процессе эмбриогенеза рыб не исследовались. Эти ферменты широко распространены в животных организмах. Важнейшей их функцией является участие в регуляции свободнорадикального перекисного окисления липидов.

В настоящей работе изучена активность СОД и ГП в эмбриогенезе вьюна и севриги.

Объектом исследования служили зрелая икра и зародыши вьюна и севриги. Икру севриги получали на Терском рыбноводном открытом заводе Дагестана. Стадии развития севриги определяли по Лет. зфу(3). Цитозоль и митохондрии получали методом дифференциального центрифугирования (4). Активность СОД определяли по ингибированию восстановления синего нитротетразоля в квантиноксидантной системе методом Фридовича (1971), а глутатионпероксидазы — по скорости окисления $NADPH$ в сопряженной глутатионредуктазной системе при использовании в качестве субстрата гидроперекиси трет-бутила.

Белок определяли по Лоури.

Показано (таблица), что в зрелой икре, в зародышках вьюна и севриги имеется активность СОД и ГП. Причем, активность цитозольной СОД в икре вьюна и севриги была одинаковой, тогда как у зародышей севриги активность фермента была выше.

Активность супероксиддисмутазы и глутатионпероксидазы в процессе эмбриогенеза вьюна и севриги.

(Е/мг.балка, $M \pm m$, из 6-8 измерений).

| Стадия развития | ВЬУН | | СЕВРИГА | |
|-----------------|---------------------|-------------|-------------|-------------|
| | СУПЕРОКСИДИДСМУТАЗА | | | |
| | Цитозоль | Митохондрии | Цитозоль | Митохондрии |
| Икра | 8,51±0,71 | 2,91± 0,18 | 9,02±0,20 | 4,28±0,36 |
| Дробление | 9,52±0,18 | 2,43± 0,14 | 10,03±0,18 | 3,21±0,31 |
| Гастрюляция | 9,50±0,19 | 2,04± 0,15 | 8,74± 0,14 | 3,02±0,31 |
| Органогенез | 7,14±0,62 | 1,26± 0,03 | 6,16± 0,13 | 2,02±0,22 |
| Выклев | 9,51±0,17 | 1,07± 0,04 | 8,57± 0,14 | 2,04±0,29 |
| Личинка | 10,10±0,19 | 1,01± 0,06 | 11,01± 0,21 | 2,05±0,21 |

| Стадия развития | ГЛУТАТИОНПЕРОКСИДАЗА | | | |
|-----------------|----------------------|-------------|-----------|-------------|
| | Цитозоль | Митохондрии | Цитозоль | Митохондрии |
| | Икра | 0,41±0,03 | 0,55±0,07 | 0,71±0,04 |
| Дробление | 0,38±0,02 | 0,50±0,06 | 0,68±0,04 | 1,31±0,04 |
| Гастрюляция | 0,30±0,02 | 0,41±0,03 | 0,51±0,03 | 1,22±0,03 |
| Органогенез | 0,21±0,02 | 0,31±0,05 | 0,38±0,03 | 1,23±0,02 |
| Выклев | 0,15±0,01 | 0,30±0,04 | 0,36±0,04 | 1,14±0,03 |
| Личинка | 0,15±0,02 | 0,31±0,02 | 0,37±0,03 | 1,21±0,04 |

Содержание митохондриальной СОД было на порядок ниже, чем цитозольной СОД. Имелись и различия в динамике изменения ферментов в процессе эмбриогенеза. Активность митохондриальной СОД в процессе развития снижалась, тогда как активность цитозольной СОД имела тенденцию к повышению. В отличие от СОД содержание глутатионпероксидазы в митохондриях была выше, чем в цитозоле. В процессе эмбриогенеза в митохондриях и в цитозоле активность фермента снижалась примерно 2-3 раза. Ферментативная организация процессов генерирования и утилизации липоперок-

сидов в клетке позволяет рассматривать липопероксиды в качестве необходимых интермедиатов нормальных метаболических реакций.

Таким образом, предыдущие наши работы и результаты настоящего исследования показали, что зрелая икра и зародыши рыб имеют низкую по мощности ферментативную антиокислительную систему защиты от свободнорадикального повреждения, что, по-видимому, лежит в основе высокой чувствительности раннего онтогенеза рыб к повреждающим агентам среды.

Литература

1. Чернышов В.И., Исуев А.Р. Этиология свободнорадикальной патологии у рыб в процессе эмбриогенеза - Вопросы ихтиологии, 1980, т. 20, вып. 2, с. 334-344.

2. Исуев А.Р. и др., Перекиси липидов и антиоксиданты в период эмбриогенеза севриги - Вопросы ихтиологии, 1982, т.22, вып. 6, с. 1035-1038.

3. Дятлаф Т.А., Гинзбург А.С. Зародышевое развитие осетровых рыб в связи с вопросом разведения - М. АН СССР, 1954, с. 161.

4. Методы биологии развития, М.: Наука, 1975 с. 447.

ЦИТОХРОМ Р-450 СОДЕРЖАЩАЯ МОНООКСИГЕНАЗНАЯ СИСТЕМА МИКРОСОМ В ПРОЦЕССЕ РАННЕГО ОНТОГЕНЕЗА РЫБ

А.Р.Исупов, Котелевцев С.Н., Пономарева Л.Н.

Тбилисский государственный университет

В настоящее время отсутствуют исследования о наличии цитохром Р-450 - содержащий монооксигеназной системы в эмбриогенезе рыб. Известно, что цитохром Р-450 участвует в биосинтетических процессах (1-3), выполняет функции монооксигеназ, диоксигеназ и пероксидаз. Основная его функция - защита организма от чрезмерного накопления неполярных экзогенных и эндогенных соединений (4). ДАЛНЕРУ и соавт. (5) удалось показать, что активность ферментов очень низка в эмбриональной печени и начинает увеличиваться сразу после рождения.

Образование гидроксимирующей редоксцепи в печени новорожденных крыс стимулировали, как и у взрослых животных, введением фенобарбитала. Индукция отмечалась и при введении ксаноби-тенов беременным самкам крыс за несколько дней до родов (цит.4). Полученные результаты позволили авторам выдвинуть представления о первичном образовании в клетках эмбрионально. печени ферментно неактивной "и2" мембраны (5).

С другой стороны, известно, что полициклические углеводороды и полихлорированные бифенилы, попадающие в водные экосистемы со сточными водами промышленных предприятий и городов, способны накапливаться в тканях рыб, и в результате метаболической активизации в системе монооксигеназ приобретают мутагенные и канцерогенные свойства. У теплокровных животных индукция монооксигеназных активностей полициклическими углеводородами и полихлорированными бифенилами сопровождается изменением фосфолипидного состава биомембран. Ранее мы показали, что обмен фосфолипидов является важным фактором развития и от его модификации существенно зависит характер эмбриогенеза. В связи с этим целью данного исследования было изучать биогенез цитохрома Р-450 в процессе эмбриогенеза вьюна (*Misgurnus fossilis*), а также индукцию цитохром Р-450 в период овогенеза и эмбриогенеза при введении самкам 3-метилхолантрена и смеси полихлорированных бифенилов-Совола. Параллельно исследовались изменения фосфолипидного состава.

Опыты проводили на фракции микросомальных мембран, полученных из печени, икры и зародышей рыбы методом дифференциального ультрацентрифугирования.

Активность компонентов монооксигеназной системы определяли методом (7). Метилхолантрен и совола вводили самкам в количестве 0,5 мг/л и 0,3 мг/л соответственно, до семи суток. После этого контрольную и опытную группу самок инициировали гонадотропным гормоном (хориогонин). Белок определяли методом Лоури.

Анализ фосфолипидов проводили на пластинках фирмы "Мегс" с последующей окраской пятен йодом и сканированием на спектрофотометре. Монооксигеназная активность определялась по O-диалкилированию 7-этоксикумарина.

Инъекция самкам рыбы метилхолантрена (МХ) и совола приводила к задержке созревания яйцеклеток на 20-24 часа. При этом, если в контроле процент оплодотворенной икры не снижался ниже 90%, то в результате инъекции МХ этот показатель составлял $75 \pm 7\%$, а при инъекции совола $67 \pm 5\%$. В ходе эмбриогенеза рыб, которым вводились ксенобиотики, увеличилось число погибших зародышей по сравнению с контролем на 10-15%, появились зародыши с дефектом развития.

В контроле фосфолипидный состав зародышей претерпевает существенные изменения. На стадии органогенеза и выклева в эмбрионах значительно возрастает доля фосфатидил-этанолamina и фосфотидилхолина. Инъекция ксенобиотиков рыбе также приводит к модификации фосфолипидного состава эмбрионов. Уровень фосфоинозитидов также резко увеличивается на стадии органогенеза. При этом характер изменения фосфолипидного состава зависит от вида индуктора и, по-видимому, прямо не связан с увеличением монооксигеназной активности.

Таким образом, введение самкам рыбы совола и МХ в дозах, вызывающих максимальную индукцию активности системы цитохрома P-450 в печени рыб, приводит к задержке в развитии, вызывает патологические изменения у зародышей и индуцирует в эмбрионах монооксигеназные активности. Параллельно с этим процессом происходит изменение фосфолипидного состава зародышей, причем характер этого изменения зависит от вида вводимого ксенобиотика.

1. Ambike S.R., Baxter R.M. *J.Pharm.Chem.*, 1970, 59, № 8
II49-II52
2. Dennis D.T., West Ch.A. *J.Biol.Chem.*, 1967, 246, #14,
3293-3300.
3. Russel D.W. *J.Biol.Chem.*, 1971, 246, № 12, 3870-3878
4. Арчаков А.И. Микросомальное окисление. М.:Наука, 1975, 327 с.
5. Siekevitz T. et al. In "Organizational Biosynthesis". 1968,
N.Y.-London. Acad.Press, p.331-362.
6. Методы биологии развития. М.:Наука, 1975, 447 с.
7. Omura T., Sato R. *J.Biol.Chem.*, 1964,
239, 2379-2385.



ИЗМЕНЕНИЕ КАЛИЕВОЙ ПРОВОДИМОСТИ МЕМБРАН КЛЕТОК JUKRAT
НА РАЗНЫХ СТАДИЯХ РОСТА КУЛЬТУРЫ

И.Е.Катина, А.В.Донский, Н.Г.Рощина, В.Е.Толстикова, С.Н.Бутов
Физиологический институт Ленинградского университета

Исследования последних лет показали, что для большого числа исследованных типов клеток общим является наличие в их плазматических мембранах калиевых каналов. Естественным поэтому является вопрос о роли этих каналов в клеточных процессах. Для традиционных объектов электрофизиологических исследований — нейронов (и аксонов), миоцитов, рецепторов — ответ на этот вопрос, по крайней мере в общих чертах, получен. Однако, с расширением круга исследуемых объектов, выяснилось, что ответ на этот вопрос не является универсальным. В частности показано, что в мембранах лимфоцитов имеются потенциал-управляемые калиевые каналы, однако, их роль в жизнедеятельности клеток остается пока неясной. Известно лишь, что калиевые каналы необходимы для ранних стадий активации Т-лимфоцитов, которая сопровождается увеличением числа каналов на клетку в 20-50 раз (1). Эти факты демонстрируют участие К-каналов в митогенезе, но данных слишком мало для выяснения конкретного характера этого участия.

Цель данной работы — определить некоторые характеристики К-проводимости Т-клеток человека линии Jurkat в процессе роста культуры и попытаться увязать эти данные с пролиферативной активностью.

Клетки выращивались по стандартной методике в среде RPMI-1640 с добавлением 10% эмбриональной сыворотки. Через каждые 72 часа половина суспензии во флаконе заменялась на культуральную среду, что активировало пролиферацию клеток. С помощью светового микроскопа исследовалась концентрация клеток и распределение их по размерам через 24, 48 и 72 часа. Клетки в соответствии с их диаметрами были сгруппированы в 4 группы: I — $d < 7$ мкм, II — $7 < d < 10$ мкм, III — $10 < d < 13$ мкм, IV — $d > 13$ мкм. Через 24 часа концентрация клеток составляла 1,8 — 1,9 от исходной, через 48 часов она увеличивалась до 2,0 — 2,1 от исходной и в дальнейшем практически не изменялась. Отсюда следует, что через 24 часа после разбавления культура находится в состоянии, близком к максимальной пролиферативной активности.



Данные о распределении клеток по размерам в разные сроки после разбавления приведены на рис. 1.

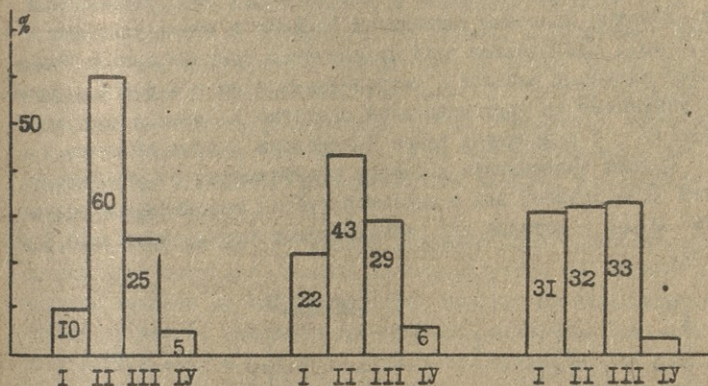


Рис. 1. Распределение клеток по размерам при различных сроках культивирования после замены среды (24, 48, 72 часа).
 По оси абсцисс: диаметр клеток - I- < 7 мкм, II-7-10 мкм, III-10-13 мкм, IV- > 13 мкм.
 По оси ординат: относительное число клеток в процентах.

Видно, что характер распределения существенно зависит от срока культивирования. Через 24 часа максимум распределения (60% клеток) приходится на клетки с диаметром 7-10 мкм. Через 48 часов доля таких клеток уменьшается до 43%, а еще через сутки - до 32%. При более длительном содержании без добавления среды размножение клеток практически прекращается и становится существенной их деградация.

Из этих наблюдений можно сделать вывод, что клетки группы II с диаметром 7-10 мкм, абсолютное число и доля которых резко увеличивается в первые сутки после добавления питательной среды, - это наиболее активно пролиферирующие клетки.

Вторая часть работы состояла в измерении токов через мембрану целой клетки при фиксированных потенциалах при помощи стеклянного электрода с воскообразным контактом (2) для клеток всех групп размеров в различные сроки культивирования. В ответ на деполяризующее смещение потенциала от исходного уровня -80 мв к потенциалам выше -40 мв наблюдались выходящие токи с типичной для калиевых каналов кинетикой - относительно быстрым нарастани-



ем (активацией) и медленным спадом (инактивацией). Судя по умеренному потенциалу реверсии ($-79,4 \pm 0,2$ мВ), наблюдаемый ток является калиевым (потенциал Нернста в наших условиях $-82,5$ мВ). Наблюдаемые токи подавляются специфическими блокаторами калиевых каналов — тетраэтиламмонием и 4-аминопиридином, что указывает на принципиальное сходство К-каналов клеток Jurkat с описанными ранее К-каналами других объектов.

Кривая зависимости хордовой проводимости от потенциала имеет S-образный вид и характеризуется максимальным значением g_{max} , которое для разных клеток варьировало от 0,5 до 10 нС.

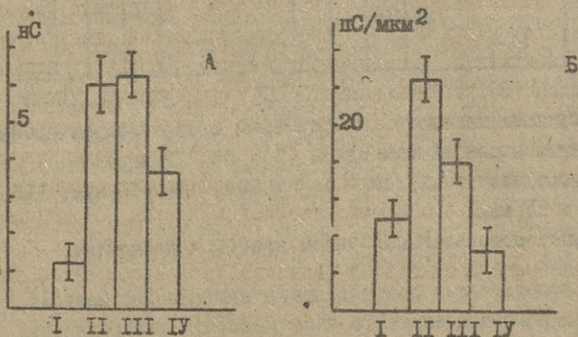


Рис. 2. Зависимость максимальной калиевой проводимости (А) и удельной калиевой проводимости (Б) от размера клетки. По оси абсцисс — диаметр клетки: I — < 7 мкм, II — $7-10$ мкм, III — $10-13$ мкм, IV — > 13 мкм.

По оси ординат — А — максимальная хордовая проводимость нС/клетка, Б — удельная проводимость пС/мкм².

На рис. 2 А представлены усредненные значения g_{max} для клеток, входящих в разные группы диаметров. Очевидно, что для клеток группы II g_{max} достоверно выше (в 5 раз), чем для клеток меньшего диаметра. g_{max} у клеток II и III группы достоверно не отличаются, а при дальнейшем увеличении размера клеток (группа IV) g_{max} заметно уменьшается.

Увеличение интегральной проводимости клеток на определенных стадиях роста культуры может быть обусловлено либо увеличением общего числа каналов однородной популяции, либо появле-

нием каналов с более высокой проводимостью.

Исследования кинетических и фармакологических (ТЭА, 4-АП, верапамил, амтизол) характеристик клеток, выполненные нами, показали, что в клетках разного размера в разные сроки после разбавления имеется только один тип каналов. Отсюда следует, что изменение проводимости мембраны клетки однозначно связано с изменением количества каналов в ней и, соответственно, удельная проводимость определяется количеством каналов на единицу поверхности мембраны.

Представляется достаточно разумным предположение, что функциональное состояние клетки характеризуется не столько количеством каналов на ее поверхности, сколько плотностью каналов. Исходя из этого, удельная проводимость мембраны была подсчитана у клеток всех 4-х групп. Результаты приведены на рис. 2 Б. Очевидно, что клетки группы II характеризуются максимальной удельной проводимостью и, соответственно, максимальной плотностью каналов.

В отличие от нативных Т-лимфоцитов человека, клетки линии Jurkat всегда активированы. Тот факт, что наиболее активно пролиферирующие клетки группы II характеризуются наибольшей плотностью калиевых каналов, позволяет допустить, что К-каналы играют существенную роль не только в процессе активации, но и для поддержания пролиферативной активности.

1. Cahalan M.D., Chandu I.G., DeCoursey T.E., Gupta S. -
J. Physiol., 1978, v 358, p. 197-237

2. Hamill O.P., Marty A., Neher E., Sakmann B., Sigworth F.J.,
Pflugers Arch., 1981, v 391, p. 83-100



ИССЛЕДОВАНИЕ ВЛИЯНИЯ РЕНТГЕНОВСКОГО ИЗЛУЧЕНИЯ НА СВЯЗЫВАНИЕ ПРОСТАГЛАНДИНОВ И НА ПЕРЕКИСНОЕ ОКИСЛЕНИЕ ЛИПИДОВ В МИКРОСОМАХ ОПУХОЛЕВЫХ КЛЕТОК

Р.З.Котария, Р.Ш.Давитая, Н.В.Талаквдзе, Б.А.Ломоадзе.
Тбилисский государственный университет

Экспериментальными исследованиями установлено, что рентгеновское излучение, модифицируя мембранные параметры, вызывает разные патологические сдвиги в связывании простагландинов (ПГ) с рецепторными участками мембран [1]. А простагландины группы E_2 оказывают небольшой противолучевой эффект в опытах на мышцах [2]. После облучения отмечена интенсификация биосинтеза PH_2E_2 , что может рассматриваться как ранняя адаптационная реакция клеток на радиационное повреждение мембран в условиях, когда нарушается связывание ПГ с их рецепторными участками [3]. С другой стороны, важную роль как в развитии повреждающих факторов радиации, так и в радиозащитной реакции организма играет перекисное окисление липидов [4]. А малаконовый диальдегид (МДА), продукт перекисного окисления липидов (ПОЛ), вызывает как инициацию опухоли, так и канцерогенную активность и является продуктом промежуточного биосинтеза ПГ [5].

Ввиду того, что в литературе отсутствуют данные о биосинтезе и рецепции ПГ в опухолевых клетках во время лучевой терапии, задачей настоящего исследования являлось изучение связывания ПГ с рецепторными участками мембран микросом, а также изменения уровня перекисного окисления липидов в микросомальных мембранах клеток эпитной карциномы Эрлиха (АКЭ) в условиях ионизирующей радиации.

В работе использовали беспородных белых мышей-самцов весом 18-20г. Животные подвергались локальному рентгеновскому облучению в области живота на аппарате РУМ-17 в дозе 2 Гр (мощ. дозы 0,5Гр/мин, 200 кв, 10мА, фильтры Си 0,5см. Облученных животных забивали путем декапитации через 24 часа после облучения. Для изучения связывания ПГ с рецепторными участками мембран микросом использовали меченный тритием 3H ПГЕ₁, 3H ПГЕ₂, и 3H ПГЕ₂ в конц. 10^{-9} М ("Amersham", Великобритания). Связывание осуществляли с помощью мембранных фильтров GF/F ("Wattman", ФРГ). Радиоактивность



проб измеряли на сцинтиляционном счётчике $5\text{z}30$ ("Interchange", Франция). Для исследования ПД использовали стандартный метод определения МДА с помощью тиобарбитуровой кислоты [6]. Белок - по Лоури. Микросомальные мембранные фракции выделяли из АКЭ на 7 суток после перевивки опухоли.

Во время исследования ПГ о рецепторных участках микросомальных мембран оказалось, что спустя сутки после облучения связывание меченных $^3\text{H}\text{ПГЕ}_1$, $^3\text{H}\text{ПГЕ}_2$ и $^3\text{H}\text{ПГФ}_{2\alpha}$ в микросомах ПД уменьшается по сравнению с необлученными пробами (рис.1).

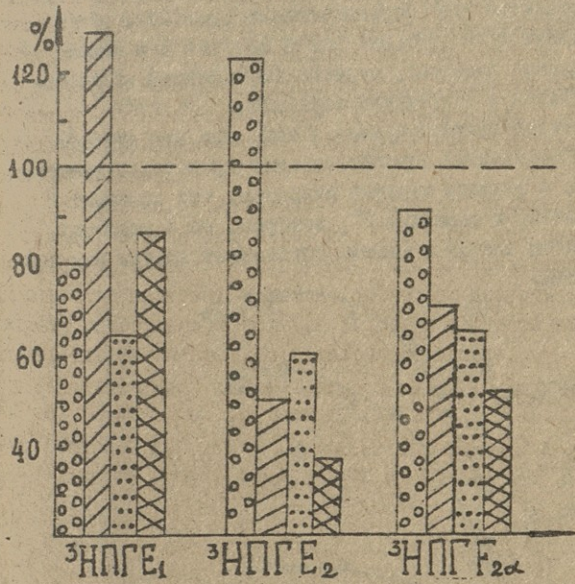


Рис.1. Изменение связывания $^3\text{H}\text{ПГ}$ в микросомах ПД и АКЭ под влиянием радиации. По оси с левит - количество связанного $^3\text{H}\text{ПГ}$, процент по отношению к контролю
 ○ - ПД; ▨ - АКЭ; ● - ПД + 2 Гр;
 ▩ - АКЭ + 2 Гр.

Что касается связывания ПГ в микросомах АКЭ, то здесь также наблюдается значительное уменьшение связывания ПГ при облучении во всех исследуемых пробах по сравнению с необлу-



ченными пробами. Можно предположить, что причиной нарушения связывания SH в опухолевых клетках в условиях облучения является пострадиационное нарушение тиол-дисульфидного обмена, которому уделяется большое внимание при радиационных поражениях биомембран, так как SH - группы входят в состав активных центров ферментов синтеза SH и играют важную роль в связывании их со специфическими мембранными рецепторами [1].

На нарушение функционального состояния мембран микросом опухолевых клеток после облучения указывают наши данные по изучению уровня перекисного окисления липидов. При облучении усиливается как ферментативный (рис. 2а), так и неферментативный путь (рис. 2б) как в ПО, так и в самой опухоли, что, по - видимому, вызвано уменьшением количества антиоксидантов в облученных образцах.

Высказывается предположение, о том, что при лучевой терапии злокачественных новообразований происходит изменение структуры и функции мембран микросом, что приводит к нарушению синтеза и рецепции SH , которое, по - видимому, является важным звеном в гибели опухолевых клеток под действием радиации.

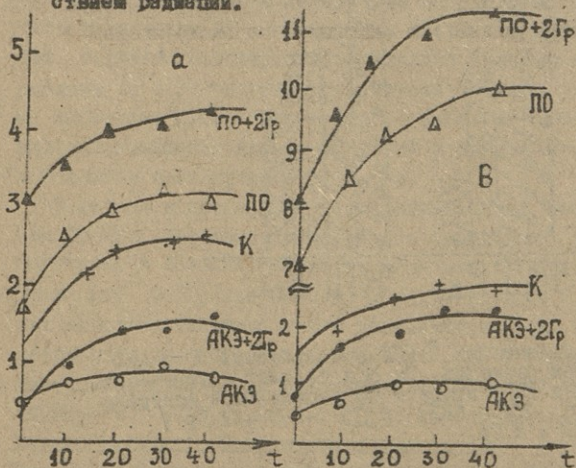


Рис. 2. Изменение ПОЛ в мембранах микросом при облучении. По оси абсцисс - время в мин; по оси ординат - кон. МДА на мг белка.

Л И Т Е Р А Т У Р А

1. Пришибникова Е.Н., Куланова Э.Н., Агафьева В.С., "Радиобиология", 1986, т. XXVI ; вып. 5, с. 652-655.
2. Hanson W.R., Aisworth F.E. // Radiat. Res. 1985, V. 103, №2, p. 196-203.
3. Малацдзе М.А., Чирков Ю.Ю., Соболев А.С., С. // Изв. АН СССР Сер. биол. , 1984, т. 10, №2, с. 127-130.
4. Бурлакова Е.Б. Информ. бюл. Совета по радиобиологии, 1975, выг 18, с. 86-92.
5. Donn K.O., Bolman R.B., Marnett L. Prostaglandins and cancer, 1981, U. 25, p. 833-863.
6. И.Д. Сидельная, Т.Г. Гаришвили. Современные методы в биохимии, М., Медицина, 1977.
7. Johnson M., Jossup R., Ramsell P.W. Prostaglandins, 1974, U. 5, №2, p 125-136.



ИССЛЕДОВАНИЕ ФОСФОЛИПИДНОГО СОСТАВА МИКРОСОМАЛЬНЫХ КЛЕТОК АСЦИТНОЙ КАРЦИНОМЫ ЭРЛИХА

Р.С. Котария, Г.Ш. Давитая, Н.В. Тадаквадзе, Б.А. Ломсадае,
М.В. Антегава

Тбилисский государственный университет

Известно, что при возникновении и развитии опухолевого роста нарушаются физико-химические свойства мембранных липидов [1,2], что может играть существенную роль в протекании этого процесса. Нейфах и Ланкин [3] наблюдали резкое увеличение уровня ненасыщенных жирных кислот как в самих опухолях, так и в органах животных - опухоленосителей. Было также обнаружено [4] относительное увеличение содержания арахидоновой кислоты в фосфолипидах раковой ткани по сравнению с нормой. Целью настоящей работы было исследование фосфолипидного состава микросомальных мембран клеток асцитной карциномы Эрлиха (АКЭ) и клеток печени опухоленосителя (Ю).

В работе использованы беспородные белые мыши - самцы, весом 18-20 г. Микросомальную фракцию мембран выделяли путем дифференциального центрифугирования. Чистоту микросомальной фракции определяли ферментативным анализом, измеряя активность маркерного фермента микросом глюкозо-6-фосфатазы [5]. Липиды экстрагировали методом Фолча. Индивидуальные фосфолипиды определяли одномерной тонкослойной хроматографией с последующей денситометрией. микросомальные фракции мембран выделяли на 7-е сутки после перевивки асцитной карциномы Эрлиха. До и после перевивки животных содержали на стандартной диете вивария О.И. МЗ СССР.

Анализ фосфолипидного состава высокоочищенных препаратов микросомальных мембран клеток печени мышей показал присутствие в них фосфатидилхолина (ФХ), сфингомиелина (СМ), фосфатидилэтаноламина (ФЭ), фосфатидилсерина (ФС) и фосфатидилинозитола (ФИ). Основными из них являются ФХ (36,7%), СМ (31,1%) и ФЭ (17,9%), схожий фосфолипидный состав наблюдается в плазматических мембранах печени крыс: ФХ (39,5%), СМ (31,4%) и ФЭ (20,9%) [6]. Как показано в таблице (табл. I), изменение спектра фосфолипидов носит разнообразный характер: содержание СМ значительно увеличивается как в печени опухоленосителя, так и в самой

Таблица I

Изменение содержания индивидуальных фосфолипидов в микросомальных мембранах клеток интактной печени мышей, в печени опухоленосителя (ПО) и в аспитной карциноме урлика (АКЭ).

| субстрат | Количество фосфолипидов, % | | | | |
|-----------------------------|---|-----------------------------------|--------------------------------|---|--------------------------------|
| | фосфа- тидэ- ганола- миг (ФЭ) | фосфа- тидил- холин (ФХ) | сфин- гомие- лин (СМ) | фосфа- тиди- линови- тол (ФИ) | фосфа- тидилсе- рин (ФС) |
| Интактная печень (20) | 17,9 | 36,7 | 31,1 | 9,6 | 4,7 |
| ПО (15) | 14,8 | 30,6 | 36,4 | 6,3 | 11,9 |
| АКЭ (15) | 15,4 | 31,5 | 34,4 | 3,5 | 15,2 |

в скобках—число животных в группе.

опухоли. В то же время количество ФЭ и ФХ уменьшается во всех исследуемых пробах до сравнения с контролем.

Что касается минерных фосфолипидов, то здесь наблюдается существенное снижение количества ФИ во всех исследуемых пробах, что сочетается с накоплением ФС в микросомальных мембранах как клеток печени опухоленосителя, так и в самой опухоли. Наблюдаемые сдвиги фосфолипидных показателей мембраны могут способствовать нарушениям ферментативной активности мембрано-связанных ферментов. Действительно, угнетение активности Na^+ , K^+ -зависимой АТФ-азы плазматической мембраны клеток печени крыс [6], коррелирует с избытком холестерина и выходом из мембраны ФИ. Вместе с тем накопление холестерина и СМ, являющихся специфическими липидными компонентами этой мембраны, могут обуславливать изменение текучести липидного бислоя и вызывать конформационные перестройки в мембране.

Таким образом, обнаруженные сдвиги качественных и количественных характеристики фосфолипидных компонентов могут свидетельствовать о структурно-функциональных нарушениях

микросомальных мембран как клеток печени опухоленосителя,
так и в самой опухоли.

Л и т е р а т у р а

1. Е. П. Сидорик. Автореферат докт. дисс. Киев, 1969.
2. K. Winkler *J. Roy. Soc. Med.* 80, 1987, 713-714.
3. Е. А. Нейфах, В. З. Ланкин. Биофизика, 12; вып. 6, 1967, 1085.
4. M. Kikagawa, M. Azaki, M. Kato *Tohoku J. Exp. Med.* 44, 123, 1977, 365-370.
5. А. И. Арчаков. Микросомально окисление. М., 1975.
6. С. Т. Рыскулова, Л. А. Бадахчи. Радиобиология, т. 24, вып. 6, 1984, 650-651.

ИЗМЕНЕНИЕ НЕКОТОРЫХ ГЕМОМЕТРИЧЕСКИХ
ПОКАЗАТЕЛЕЙ У БОЛЬНЫХ ГНОЙНО-СЕПТИЧЕСКИМИ
ЗАБОЛЕВАНИЯМИ ПРИ ПРОВЕДЕНИИ
КУРСА СОРБЦИОННОЙ ДЕТОКСИКАЦИИ.

Н. Г. КРУЧИНСКИЙ

Минский медицинский институт

Лечение гнойно-септических заболеваний /ГСЗ/ продолжает оставаться исключительно важной и актуальной проблемой современной медицины. Несмотря на совершенствование оперативной техники, расширяющийся арсенал антибактериальных, химиотерапевтических препаратов и антисептиков, успехи современной анестезиологии и интенсивной терапии, летальность остается высокой /20-70% при сепсисе, 18-40% при перитоните/, не имея тенденции к снижению [2, 7, 9, 10, 11].

Общепризнанным фактом, осложняющим течение ГСЗ, является нарушение гомеостаза организма, которое способствует прогрессированию эндогенной интоксикации [11] и нарушению целого комплекса обменных процессов и функций организма, а зачастую, и предопределяет неблагоприятный исход заболевания [2, 7, 9, 10].

Применение в последнее время в лечении экзо- и эндотоксикозов различного генеза методов сорбционной детоксикации позволило выявить некоторые новые механизмы развития ряда заболеваний и заметно улучшить результаты лечения [2, 5, 7].

В настоящей работе предпринята попытка изучения некоторых гемометрических показателей, описывающих состояние гомеостаза, у больных ГСЗ при проведении курса сорбционной детоксикации методом гемосорбции /ГС/ на универсальных углеродных гемосорбентах типа СКН.

Всего было обследовано 56 больных разлитым гнойным перитонитом /РП/ и 35 больных сепсисом различного генеза. Контрольную группу составили 15 практически здоровых доноров.

Исследовали следующие гемометрические показатели: интегральные показатели - лейкоцитарный индекс и гематологический показатель интоксикации /ЛИИ и ГПИ/ [1]; интегральный показатель состояния макрогемодинамики организма - шоковый индекс /ШИ/ [12]; параметры белкового обмена - концентрация в плазме крови общего белка и альбумина [4]; показатели степени выраженности протеолиза - концентрация веществ группы "сред-



них молекул /СМ/ [7] и уровень эластазной активности /ЭА/ [8]; показатель устойчивости нейтрофильных гранулоцитов крови — тест спонтанного повреждения нейтрофилов /ТСПН/ [3].

Кровь для исследования получали из подключичной вены до начала применения ГС и после окончания курса сорбционной детоксикации.

Всем больным гемосорбция проводилась по оптимизированной — методике, принятой в Белорусском республиканском центре сорбционных методов детоксикации [6]. В среднем, на курс лечения проводилось 3-4 операции ГС.

Показанием к включению в комплексное лечение больных ГС метода ГС служили: тяжесть общего состояния больных, выраженность признаков синдрома эндогенной интоксикации /СЭИ/, а у умерших пациентов и синдрома полиорганной недостаточности /СПОН/ [1,2,7,11,12]. Межсорбционные интервалы у выживших больных составили в среднем $20,63 \pm 0,99$ часов, а у умерших — $22,87 \pm 2,01$ часа. Показания к проведению повторных ГС определялись в зависимости от эффективности предыдущих гемокарбоперфузий и темпов нарастания СЭИ и СПОН в межсорбционных промежутках.

Статистическая обработка полученных результатов включала вычисление характеристик числовых рядов и определения различия средних с помощью критерия Стьюдента.

Полученные результаты изменений изучаемых гемометрических показателей представлены в таблицах 1 и 2. Как следует из приведенных таблиц, исходное состояние гемометрических показателей характеризуется выраженными нарушениями, как у больных РП, так и у больных сепсисом: значительное повышение интегральных индексов интоксикации /ЛИИ и ГПИ/, напряжение гемодинамических механизмов /ШИ/, активация процессов биodeградации /повышение концентрации СМ и ЭА/, снижение устойчивости нейтрофильных гранулоцитов.

Следовательно, исходное состояние гомеостаза у больных ГС может расцениваться как значительное нарушение компенсаторно-приспособительных механизмов.

Проведение курса сорбционной детоксикации приводит к неоднозначному изменению изучаемых показателей. Так, у выживших больных РП и сепсисом проявляется тенденция к нормализации состояния гемодинамики /снижение ШИ/, уменьшению проявлений

ИЗМЕНЕНИЕ НЕКОТОРЫХ ГЕМОМЕТРИЧЕСКИХ ПОКАЗАТЕЛЕЙ У БОЛЬНЫХ РАЗЛИТЫМ ГНОЙНЫМ ПЕРИТОНИ-
ТОМ В УСЛОВИЯХ ПРОВЕДЕНИЯ КУРСА СОРБЦИОННОЙ ДЕТОКСИКАЦИИ

016105740
303 01101030

| ПОКАЗАТЕЛЬ | ЧИСЛО НАБЛЮДЕНИЙ | КОНТРОЛЬ | До начала | | После курса | | P | | |
|-------------------|---------------------|------------|-------------|--------------|------------------|------------------|------------------|--|--|
| | | | IC | IC | P ₃₋₄ | P ₃₋₅ | P ₄₋₅ | | |
| I. | 2. | 3. | 4. | 5. | 6. | 7. | 8. | | |
| Л И И | 10 | 0,62±0,09 | | | | | | | |
| Выжившие | 39 | | 4,88±0,82 | 2,07±0,34 | <0,005 | <0,005 | <0,05 | | |
| Умершие | 10 | | 9,22±2,34 * | 7,27±1,71 * | <0,005 | <0,005 | >0,05 | | |
| Г П И | 10 | 0,62±0,09 | | | | | | | |
| Выжившие | 33 | | 18,85±2,82 | 3,49±0,60 | <0,005 | <0,005 | <0,005 | | |
| Умершие | 10 | | 20,37±6,50 | 21,51±4,75 * | <0,005 | <0,005 | >0,05 | | |
| Ш И | 15 | 0,58±0,04 | | | | | | | |
| Выжившие | 46 | | 0,85±0,03 | 0,71±0,02 | <0,005 | <0,005 | <0,005 | | |
| Умершие | 10 | | 0,89±0,04 | 0,98±0,01 * | <0,005 | <0,005 | <0,05 | | |
| Общий белок (г/л) | 10 | 78,7 ±1,93 | | | | | | | |
| Выжившие | 17 | | 59,39±1,57 | 65,70±2,06 | <0,005 | <0,005 | <0,05 | | |
| Умершие | 7 | | 56,64±0,95 | 53,90±1,01 * | <0,005 | <0,005 | <0,05 | | |
| Альбумин (г/л) | 10 | 45,85±1,02 | | | | | | | |
| Выжившие | 12 | | 31,96±1,45 | 34,52±1,44 | <0,005 | <0,005 | >0,05 | | |
| Умершие | 5 | | 30,62±2,81 | 29,02±1,84 * | <0,005 | <0,005 | >0,05 | | |

Таблица I (продолжение)

| I | 1 | 2 | 1 | 3 | 1 | 4 | 1 | 5 | 1 | 6 | 1 | 7 | 1 | 8 |
|-----------|----|-------------|---|---|-------------|---|-------------|---|---------|--------|---|--------|---|---|
| СМО (г/л) | 9 | 0,51±0,03 | | | | | | | | | | | | |
| Выжившие | 20 | | | | 2,13±0,12 | | 1,47±0,06 | | <0,005 | <0,005 | | <0,005 | | |
| Умершие | 9 | | | | 2,10±0,30 | | 2,42±0,28 | | *<0,005 | <0,005 | | >0,05 | | |
| ЭА (у.е.) | 10 | 200,00±0,60 | | | | | | | | | | | | |
| Выжившие | 18 | | | | 260,00±1,00 | | 210,00±0,10 | | <0,005 | >0,05 | | <0,005 | | |
| Умершие | 7 | | | | 230,00±0,10 | | 250,00±0,70 | | *<0,005 | <0,05 | | <0,05 | | |
| ТСН | 9 | 0,17±0,01 | | | | | | | | | | | | |
| Выжившие | 8 | | | | 0,35±0,04 | | 0,27±0,02 | | <0,005 | <0,005 | | <0,05 | | |
| Умершие | 3 | | | | 0,20±0,05 | | 0,59±0,15 | | *>0,05 | <0,02 | | <0,005 | | |

Примечание : * - показатель статистически значимого ($p < 0,05$) различия между значениями изучаемых показателей у выживших и умерших пациентов.

ИЗМЕНЕНИЕ НЕКОТОРЫХ ГЕМОМЕТРИЧЕСКИХ ПОКАЗАТЕЛЕЙ У БОЛЬНЫХ СЕПСИСОМ В УСЛОВИЯХ
ПРОДОЛЖЕНИЯ КУРСА СОРБЦИОННОЙ ДЕТОКСИКАЦИИ:



| ПОКАЗАТЕЛЬ | ЧИСЛО наблюдений | КОНТРОЛЬ | До начала | | После курса | | | P | | |
|-------------------|---------------------|----------|--------------|----|------------------|------------------|------------------|-------|--|--|
| | | | ГС | ГС | Р ₃₋₄ | Р ₃₋₅ | Р ₄₋₅ | | | |
| I. | 1. | 2. | 3. | 4. | 5. | 6. | 7. | 8. | | |
| Л И И | 10 | | 0,62±0,09 | | | | | | | |
| Выжившие | 21 | | 4,70±1,20 | | 1,95±0,34 | <0,005 | <0,005 | <0,05 | | |
| Умершие | 10 | | 5,48±0,22 | | 8,46±0,92 * | <0,005 | <0,005 | <0,01 | | |
| Г П И | 10 | | 0,62±0,09 | | | | | | | |
| Выжившие | 21 | | 15,62±5,01 | | 5,49±1,05 | <0,005 | <0,005 | <0,05 | | |
| Умершие | 10 | | 15,35±2,38 | | 22,93±1,24 * | <0,005 | <0,005 | <0,02 | | |
| Ш И | 15 | | 0,58±0,04 | | | | | | | |
| Выжившие | 25 | | 0,96±0,05 | | 0,83±0,04 | <0,005 | <0,005 | <0,05 | | |
| Умершие | 10 | | 0,98±0,09 | | 0,92±0,01 * | <0,005 | <0,005 | >0,05 | | |
| Общий белок (г/л) | 10 | | 78,70±1,93 | | | | | | | |
| Выжившие | 18 | | 63,71±2,53 | | 65,67±2,69 | <0,005 | <0,005 | >0,05 | | |
| Умершие | 4 | | 55,38±1,16 * | | 52,23±1,25 ** | <0,005 | <0,005 | <0,05 | | |
| Альбумин (г/л) | 10 | | 45,85±1,02 | | | | | | | |
| Выжившие | 14 | | 31,96±1,82 | | 34,02±1,29 | <0,005 | <0,005 | >0,05 | | |
| Умершие | 8 | | 33,33±0,87 | | 31,17±0,85 | <0,005 | <0,005 | <0,05 | | |

Таблица 2 (продолжение)

| Г | ! | 2 | ! | 3 | ! | 4 | ! | 5 | ! | 6 | ! | 7 | ! | 8 |
|-------------|----|----|---|-------------|---|--------------|---|--------------|--------|--------|---|--------|---|--------|
| С м О (г/л) | | 9 | | 0,51±0,03 | | | | | | | | | | |
| Выжившие | 17 | | | | | 2,57±0,29 | | 1,28±0,19 | <0,005 | <0,005 | | <0,005 | | <0,005 |
| Умершие | 5 | | | | | 1,63±0,15* | | 2,48±0,41* | <0,005 | <0,005 | | <0,005 | | <0,05 |
| Э А (у.в.) | | 10 | | 200,00±0,60 | | | | | | | | | | |
| Выжившие | 9 | | | | | 230,00±1,00 | | 190,00±0,60 | <0,05 | >0,05 | | <0,05 | | <0,05 |
| Умершие | 7 | | | | | 200,00±1,00* | | 260,00±1,00* | >0,05 | <0,005 | | <0,005 | | <0,05 |
| Т С П Н | | 9 | | 0,17±0,01 | | | | | | | | | | |
| Выжившие | 4 | | | | | 0,35±0,02 | | 0,26±0,02 | <0,005 | <0,01 | | <0,01 | | <0,02 |
| Умершие | 3 | | | | | 0,52±0,04* | | 0,64±0,04* | <0,005 | <0,005 | | <0,005 | | <0,05 |

Примечание: * - показатель статистически значимого ($p < 0,05$) различия между значениями изучаемых показателей у выживших и умерших пациентов.



СЭИ /снижение значений ЛПИ и ГПИ/, улучшение белкового обмена /тенденция к повышению концентраций общего белка и альбумина/, торможение активности протеолиза, проявляющееся снижением уровня содержания СМ и ЭА, сопряженной с улучшением состояния устойчивости нейтрофильных гранулоцитов крови.

Описанные изменения можно расценивать как улучшение состояния гомеостаза у выживших больных ГСЗ.

У умерших пациентов наблюдается противоположная тенденция в изменениях изучаемых показателей: сохранение высоких ЛПИ и ГПИ, напряженное состояние макрогемодинамики организма /ШИ/. Это свидетельствует о продолжающемся процессе эндогенной интоксикации. Выраженные нарушения белкового обмена и функционального состояния нейтрофильных гранулоцитов, наряду с сохраняющимися признаками СПОН, усугубляют тяжесть состояния больных.

Следовательно, у умерших пациентов с ГСЗ после проведения курса ГС сохраняются ранее выявленные нарушения гомеостаза организма с тенденцией к прогрессированию процессов СЭИ и СПОН.

Таким образом, проведенное исследование показало, что наиболее оптимальным следует считать раннее включение сорбционной детоксикации в комплексное лечение больных ГСЗ до наступления признаков СПОН.

Клиническое течение и тяжесть синдрома эндогенной интоксикации у больных ГСЗ определяется глубиной нарушения протеолиза и белкового метаболизма, описываемых, главным образом, уровнем пептидемии, общего белка, альбумина и эластазной активности плазмы крови.

Тест спонтанного повреждения нейтрофилов может служить объективным показателем тяжести воспалительного процесса у больных ГСЗ.

Проведение цикла сорбционной детоксикации больным ГСЗ является эффективным средством коррекции нарушений гомеостаза.

ЛИТЕРАТУРА

1. Васильев В.С., Комар В.И. Критерии оценки тяжести болезни и выздоровления при карлатине. // Здравоохранение Белоруссии. - 1983. - № 2. - С. 38 - 40.
2. Годогорский В.А., Гельфанд Б.Р., Вагдатов В.Е. и др. Печеночно-почечный синдром как компонент полиорганной недостаточности у больных инфекционно-токсическим шоком //

- Анестезиология и реаниматология.- 1985.- № 4.- С. 3 - 7.
3. Дворкин М.И., Китаев М.И., Зубёхина Л.М., Басова Л.И. Тест спонтанного повреждения нейтрофилов // Лаб. дело.- 1983.- № 9.- С. 43 - 44.
 4. Колб В.Г., Камышликов В.С. Справочник по клинической химии. Минск:Беларусь.- 1982.- 368 с.
 5. Лопухин Ю.М., Молоденков М.Н. Гемосорбция.- М.: Медицина.- 1985.- 288 с.
 6. Мазур Л.И., Астапенко В.Г., Николайчик В.В. Пути оптимизации экстракорпоральной гемосорбции у больных с печёночной недостаточностью // Здравоохранение Белоруссии.- 1983.- № 10.- С. 20 - 23.
 7. Николайчик В.В., Кирювский В.В., Моин В.М. и др. "Средние молекулы" - образование и способы определения // Лаб. дело.- 1989.- № 8.- С. 31 - 33.
 8. Пакарскитэ К.Д., Чорлис Т.К., Дачис И.К. Определение эластазной активности // Методы в биохимии.- Вильнюс.- 1975.- С. 199 - 207.
 9. Рябов Г.А. Критические состояния в хирургии.- М.: Медицина.- 1979.- 320 с.
 10. Сепсис. Дискуссия за круглым столом // Тер. архив.- 1986.- № 3.- С. 109 - 123.
 11. Уманский М.А., Пинчук Л.В., Пинчук В.Г. Синдром эндогенной интоксикации.- К.: Наукова думка.- 1979.- 180 с.
 12. Шустер Х.П., Шенборн Х., Лауэр Х. Шок. Возникновение. Распознавание. Контроль. Лечение: пер. с нем.- М.: Медицина, 1981.- 112.

ВОЗМОЖНОСТИ КОРРЕКЦИИ НАРУШЕНИЙ БЕЛКОВОГО
МЕТАБОЛИЗМА ПРИ ЛУЧЕВЫХ ПОРАЖЕНИЯХ В
ЭКСПЕРИМЕНТЕ

Мазур Л.И., Кирковский В.В., Галанович В.В.,
Кушниренко В.С., Лобачёва Г.А., Матус В.В.
Мединститут, Минск

Представления об образовании в облученном организме "радиотоксинов", ответственных за дальнейшие симптомы и проявления лучевого поражения, возникли ещё в эпоху становления радиобиологии [3]. Однако, многочисленные претенденты на роль особого, не встречающегося ранее в организме, "радиотоксина" не выдержали экспериментальной проверки. Эксперименты с переливанием крови от облученных животных к необлученным и в опытах с перекрёстным кровообращением показали, что в крови реципиента можно обнаружить сдвиги, близкие к обнаруживаемым у облученного донора [1]. Эти данные убедительно доказывают появление токсических свойств в жидкостных средах организма. Аналогичные опыты доказали токсичность жидкостных сред организма при ожоговой болезни, шоковых и других экстремальных состояниях. Эти явления обобщаются универсальным понятием синдрома эндогенной интоксикации. Кстати, при указанных состояниях адекватная детоксикация способствовала в значительной мере благополучному исходу [4].

По тяжести и разнообразию патологических проявлений трудно даже сопоставить лучевое поражение с любыми экстремальными состояниями; под действием ионизирующей радиации в "шоковом" состоянии одновременно оказываются многие важные системы гомеостаза и детоксикации, чем и определяется сложность коррекции многочисленных нарушений.

Основная цель работы - клинико-лабораторная оценка пострадиационной неспецифической интоксикации у животных, и роли дискоординации протеолиза в развитии универсального синдрома эндогенной интоксикации при лучевых поражениях, а также эффективности детоксикации с помощью биоспецифического антипротеиназного сорбента "Овосорб".

Опыты проведены на половозрелых собаках-самцах весом 13,5-20,0 кг, содержащихся на обычном рационе вивария. По условиям эксперимента животные разделены на серии, которые отличались друг от друга дозой и мощностью облучения. Каждая серия состояла из 3-х животных. У контрольной собаки изучались все определяемые показатели в динамике формирования патологии. Второй собаке до облучения и ежедневно после него один раз в сутки вводился неспецифический ингибитор протеиназ - контрикал (в дозе 20 000 ЕД). Третьей собаке после облучения проводилась гемосорбция (ГС) с использованием антипротеиназного гемосорбента "Овосорб". При проведении ГС во всех случаях использовался артерио-венозный вариант подключения, время работы одного массообменника - 30 мин, скорость 50-70 мл/мин, объём перфузии - 1,5-2,5 ОЦК.

Облучение проводилось в институте ядерной энергетики АН БССР на установке УТУ-420.

Результаты исследований:

Ключевая роль ферментов в любой функции клетки оправдывает интерес к вопросу о том, являются ли ферменты действительно не только первичным, но и критическим пунктом воздействия ионизирующей радиации, которое вызывает деградацию и деструкцию клеток, нарушение физиологических функций и затем развитие каскада явлений эндогенной интоксикации. Особое внимание в этом аспекте привлекают ферменты белкового метаболизма.

Отрицательный баланс азота не может быть объяснён только анорексией и нарушением всасывания, наблюдаемых уже в ранние сроки после облучения [2,6]. Безусловно, среди основных причин нарушения баланса азотсодержащих соединений в облученном организме важнейшей является усиление катаболизма белков. Получены данные, свидетельствующие о повышении протеолитической активности в тканях головного мозга уже через 20 мин после облучения в дозе более 10 Грей, когда клеточная деструкция в эти сроки в ткани выражена очень слабо [3]. Повышение активности протеиназ особенно чётко выражено в лимфоидной ткани в ранние сроки (уже к 12 часам) после воздействия и пропорционально дозе облучения, тогда как в радиорезистентных органах - печени и почках активность не изменяется [2,3,6].

Совершенно очевидны пути воздействия на указанные факторы: 1 - детоксикационное действие экстракорпоральных процедур извлечения активированных форм протеолитических ферментов из крови и 2 - сравнение с эффектом ингибиторов протеиназ, вводимых в организм.

Продолжительность жизни у животных при облучении 10^6 и 7 Грей соответствовала установленным ранее данным [3]. У контрольных животных диспептические расстройства наблюдались значительно раньше, чем у опытных. Динамика падения веса животных также была характерной. Так, в 1-3 сутки после облучения значительное падение веса было отмечено у контрольных животных, в то время как у животных, которым проводилась ГС, падение веса составляло 2-8% (рис.1). Потеря веса у пораженных животных могут быть объяснены не столько анорексией, диареей и рвотой, сколько катаболизмом в том числе и белков; снижение протеолитической активности во время ГС и после нее приводило к уменьшению разрушения белка, следовательно, замедлялась потеря веса.

Чрезмерная активация протеолитических ферментов в тканях и в сосудистом русле приводят к накоплению продуктов деградации белка. Под действием протеолитических продуктов деградации - пептидов группы "средних молекул" (СМ) у контрольных животных происходило усиление процессов перераспределения метаболитов между жидкими средами организма, дальнейшая активация протеолиза, нарушение равновесия в системе ингибитор - протеиназа, повышение катаболизма и, как следствие, значительная потеря веса.

У животных, получавших контрикал, потеря веса была почти такой же, как и у контрольных животных, что, возможно, связано с недостаточной или неравномерной концентрацией в крови этого ингибитора.

В наших экспериментах изучались показатели гемодинамики животных в различные сроки после облучения. Выраженные нарушения гемодинамики являлись критерием выбора животного для проведения ГС. После однократной процедуры ГС происходило значительное, но кратковременное улучшение показателей гемодинамики, при дальнейшем нарастании гемодинамических расстройств

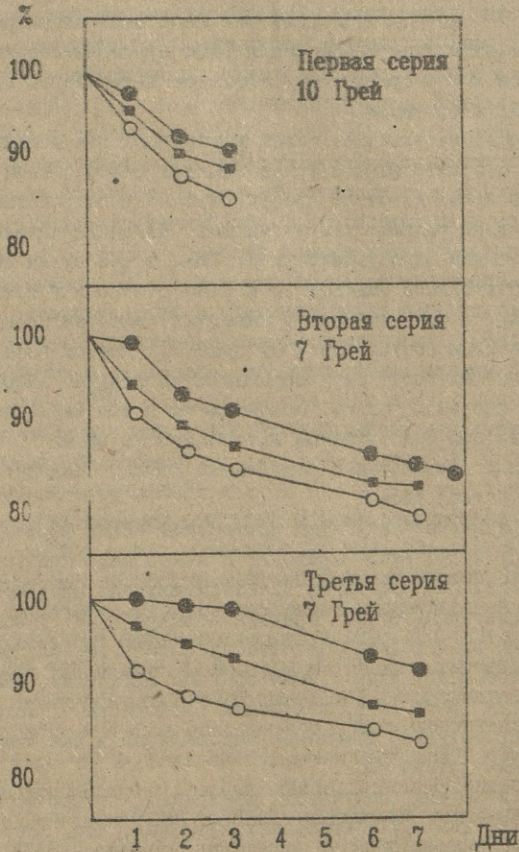


Рис.1. Динамика изменения веса

- Облучение , контроль
- Облучение + контрикал
- Облучение + гемосорбция

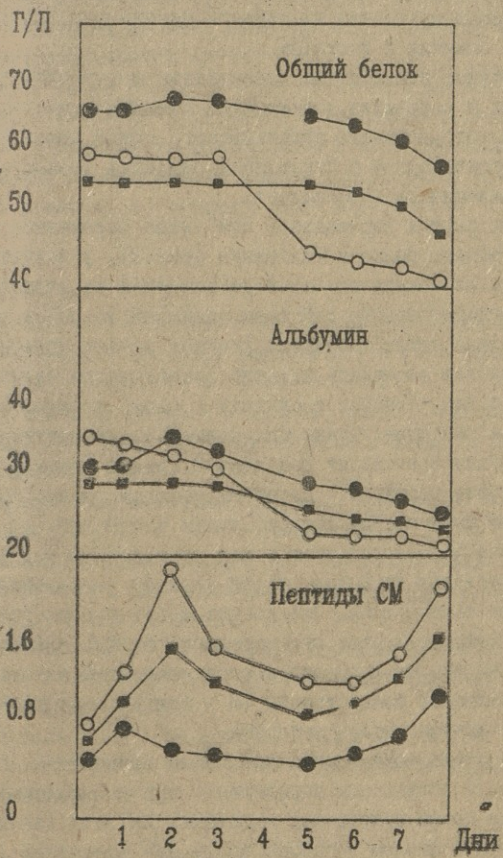


Рис.2. Показатели белкового метаболизма при дозе облучения 7 Грей

- Облучение, контроль
- Облучение + контрикал
- Облучение + гемосорбция

повторные ГС также были эффективными. Введение контрикала в меньшей степени позволяло удерживать показатели гемодинамики в пределах, близких к исходным.

Безусловно, комплексные мероприятия могут оказаться более эффективными в коррекции возникающих гемодинамических отклонений и, кроме того, повышать эффективность самой процедуры ГС; однако, в соответствии с целью экспериментов трансфузионная терапия умышленно не применялась.

Во всех сериях наблюдалось отчетливо выраженное снижение содержания общего белка и альбумина (рис.2), у контрольных животных эти изменения вне всякого сомнения не являются следствием непосредственного действия радиации на белки крови: здесь отчетливо видна вторичная реакция целого организма. С помощью ГС удаётся замедлить падение концентрации белков в плазме. Вместе с тем, удаётся и снизить уровень продуктов разрушения белков - пептидов группы СМ. Повышение концентрации веществ этой группы происходит при дозе 7 Грей в период, отдалённый от действия радиации. Подобная закономерность прослеживается и при ряде других экстремальных состояний. [4].

В случае подавления протеолиза контрикалом или сорбцией активных протеиназ из плазмы крови удаётся резко снизить концентрацию пептидов СМ. Эти данные могут рассматриваться как важное доказательство существенного вклада дискоординации протеолиза во многие процессы пострадиационной интоксикации, а степень снижения концентрации СМ - как доказательство эффективности лечения этого синдрома.

Отводя столь важную роль активации протеолиза, естественно рассмотреть результаты определения протолитической активности плазмы крови облученных животных. Из этих данных можно сделать вывод о фазном процессе активации протеолиза, причём крайне важно, что первая волна активации наблюдалась в раннем пострадиационном периоде (1-3 сутки). Указанным и определялось время проведения ГС.

С помощью гидротелевизионного антипротеиназного сорбента "Ово-со-3" можно снизить до нулевых значений активность протеиназ в течение 30 мин процедуры.

Основные результаты, полученные в работе, свидетельствуют о

том, что использование биоспецифических сорбентов позволяет выяснить отдельные аспекты молекулярной этиологии неспецифической пострadiационной интоксикации.

Следует также отметить перспективность использования контракала в качестве протектора и лечебного вещества. Поиск может быть направлен на подбор ингибиторов протеиназ, способных длительно циркулировать в жидкостных средах организма, проникать в клетку и сохранять свою активность.

Литература:

1. Радиационная биохимия /Под ред. Е.Ф.Романцева //Серия "Современные проблемы радиобиологии" Под ред. А.М.Кузина. М.: Атомиздат. Т. 4. 1975. - 287 С.
2. Радиационные аспекты в физике, химии и биологии (Пер. с англ.) /Под ред. Д.Э.Гродзенского и П.Д.Горизонтова. -М.: Атомиздат. 1965. - 556 С.
3. Радиационная медицина /Под ред. А.И.Буриязяна, А.В.Лебединского. изд. 3. - М.: Госатомиздат. 1963. - 372 С.
4. Николаевич В.В. Молекулярные механизмы развития эндогенной интоксикации и совершенствование путей детоксикации. Дисс... д.м.н. - Минск. 1984. - 341 С.
5. Раушенбах М.О. Чертков И.П. Патогенетическое обоснование гемо- и миелотерапии острой лучевой болезни. - М.: Медицина, 1965. - 231 С.
6. Фёдорова Т.А., Терещенко О.Я., Мазурик В.К. Нуклеиновые кислоты и белки в организме при лучевом поражении. - М.: Медицина. 1972. - 407 С.

ВЗАИМООТНОШЕНИЯ НАРУШЕНИЯ ОБМЕНА ВИТАМИНА С
И УЛЬТРАСТРУКТУРНЫХ ИЗМЕНЕНИЙ В СЕРДЦЕ ГИ-
ПОКСИРОВАННЫХ БЕЛЫХ КРЫС

Д. А. МАЧАРАШВИЛИ, О. Т. ВYРУБОВ

ГРУЗИНСКИЙ ГИИЖ

Физиологическая роль витамина С в организме весьма велика. Исследованиями ряда авторов установлено, что витамин С участвует во многих процессах обмена веществ, повышает иммунологические реакции организма. При недостатке витамина С понижается сопротивляемость организма к инфекционным заболеваниям, отмечается быстрая утомляемость, ухудшение аппетита и ряд других нарушений. Витамин С обуславливает нормальную деятельность отдельных органов и систем организма путем воздействия на протекающие в них обменные процессы. Наличие витамина С снижает уровень холестерина в крови, замедляет отложение липидных веществ в сосудах и тормозит развитие атеросклероза. [1].

Установлено, что при воздействии неблагоприятных факторов (большая физическая и умственная нагрузки, высокая температура внешней среды, повышенная лучистая энергия и др.) отмечается уменьшение накопления витамина С в организме, особенно внутренних органах [2, 3, 4].

Известно, что одним из неблагоприятных факторов, действующих на организм, является кислородная недостаточность, при которой в организме происходят тяжелые, в некоторых случаях необратимые морфо-функциональные и биохимические изменения [5, 6, 7].

Целью настоящей работы являлось сопоставление изменений обмена витамина С и ультраструктурных изменений, происходящих под влиянием гипоксии в сердце. Опыты, проведенные на белых крысах самцов, с исходной массой тела 160-180 г, разделенных на две группы; контрольную (10 крыс) и подопытную (50 крыс), которые находились в условиях гипоксии, для чего помещались в специальную гипоксическую камеру со стеклянными стенками по 2,5 часа ежедневно. Для определения степени накопления витамина С и ультраструктурных изменений, происходящих под воздей-



вием гипоксии в сердце, экспериментальные животные забивались декапитацией. Подопытные животные декапитировались на 3; 7; 14; 21 и 28-не сутки гипоксии, по 10 крыс на каждый срок. После декапитации как у контрольных, так и у подопытных крыс брали материал из передней стенки обеих желудочков сердца для определения витамина С, а также для электронно-микроскопического исследования.

Из проведенных исследований выяснилось, что по сравнению с контролем под влиянием гипоксии отмечается уменьшение концентрации витамина С в сердечной мышце. Вместе с тем, надо отметить, что тенденция уменьшения содержания витамина С в сердце постепенно возрастает и наиболее ярко выражена к концу эксперимента. Следует отметить, что под влиянием гипоксии на ранних сроках и в середине эксперимента содержание витамина С в сердце более прогрессивно уменьшается, чем в конце эксперимента. Так, например: на 3-й, 7-ой и 14-ый день гипоксии содержание витамина С в сердце уменьшается на 10,7; 12,4 и 15,6% соответственно. На 21-й и на 28-й день общей гипоксии содержания витамина С уменьшено на 17,6 и на 19,2% соответственно.

Из проведенных электронно-микроскопических исследований выяснилось, что под влиянием гипоксии изменения в ультраструктуре сердечной мышцы наблюдаются с первых же дней гипоксии и усугубляются с продолжительностью эксперимента.

На 3-й день гипоксии в сердечной мышце наблюдается выраженный межклеточный и внутриклеточный отек и уменьшение в миоцитах цитогранул. Митохондрии в большинстве клеток набухшие и образуют большие скопления, во многих из них кристы расположены беспорядочно, укорочены и фрагментированы. Канальцы саркоплазматического ретикулума расширены. Миофибриллы разобщены, их контуры смазаны и нечетко выявляется их характерная исчерченность. Ядерная оболочка в некоторых участках имеет изрезанные контуры.

На 7-ой день гипоксии в миоцитах наблюдается большое скопление резко набухших митохондрий с просветленным матриксом. Набухшие митохондрии теряют параллельное расположение крист и вакуолизированы. В миофибриллах плохо выявляется ха-

рактерная для них параллельная исчерченность. Ядра имеют резко изрезанные контуры, нуклеоплазма просветлена.

На 14-й день опытов явления межклеточного и внутриклеточного отека выражены намного резче. Митохондрии нередко имеют вид пустых овальных тел. В отдельных митохондриях наружные мембраны расплывчатые, одноконтурные, часто фрагментируются на отдельные участки. Из-за резкого увеличения митохондрий миофибриллы имеют вид узких полосок. Оболочка ядер становится складчатой и образует глубокие инвагинации, нуклеоплазма местами просветлена.

На 21-й и на 28-й день гипоксии изменения имеют несколько иной характер. Все ещё обнаруживается выраженный межклеточный и внутриклеточный отек, а почти полное отсутствие цитогранул. Митохондрии остаются увеличенными в размере, кристы в них частично разрушены, оставшиеся же удлиняются. Во многих митохондриях наблюдается соединение сохранившихся крист или их фрагментов, так что они оказываются связанными как друг с другом, так и с наружной мембраной. Наружные мембраны митохондрий сохранены. Канальцы саркоплазматического ретикулума остаются увеличенными. Миофибриллы как бы смазаны, контуры миофиламентов нечетки. Оболочка ядра в большинстве случаев местами теряет двухконтурность и образует глубокие инвагинации. Нуклеоплазма в отдельных участках просветлена.

Таким образом, в результате общей гипоксии имеет место нарушение обмена витамина С в сердце, что выражается в постепенном уменьшении ее количества. Как уже отмечалось, эти изменения количества витамина С под воздействием гипоксии по сравнению с контролем постепенно усугубляются и наиболее интенсивно выражены на 14-й день гипоксии. В дальнейшем он носит менее интенсивный характер. Кроме того, в результате проведенного эксперимента выяснилось, что резко изменяется и ультраструктура сердечной мышцы. Изменения эти усугубляются также с увеличением длительности эксперимента, достигая на наибольшей выраженности на 14-й его день. Причем, следует отметить, что в ранние сроки, до 14-го дня, преобладают в основном изменения патологического характера, выражающиеся в деструкции и дистрофии мышечных волокон и энергообразующего



аппарата. В последующие сроки гипоксия изменения носят в основном компенсаторно-приспособительный характер.

Л и т е р а т у р а

1. Рыс. С.М. Витамины в медицине, Л., 1960.
2. Миаберидзе Т.В. Обмен витамина С в организме легкоатлетов при спортивной тренировке в условиях среднегорья. Материалы научной конференции Грузинского ИИЖ и Грузинского НИИЖ. Тбилиси, 1967, с.104-105.
3. Г.М.Натадзе, Б.Р.Хоситашвили, М.И.Зурабшвили. К вопросу о влиянии высокой температуры на обмен витамина С. Труды НИИ питания МЗ СССР, т.1-2-3. Тбилиси, 1961, с.117-125.
4. Хоситашвили Б.Р., Момадзе Н.К. К вопросу о содержании витамина С в моче и органах животного организма при воздействии высокой температуры. Труды НИИ питания МЗ СССР, т.1-2-3. Тбилиси, 1961, с.137-142.
5. Далакишвили С.М., Ультраструктурные показатели миокардиальных клеток при общей гипоксии у крыс различного возраста. В кн.: Ультраструктура сердечно-сосудистой системы в норме и патологии. Материалы симпозиума, "Мецинераба", Тбилиси, 1976, с.175-178.
6. Цагарели З.Г. Ультроструктурный анализ сердца, Тбилиси, 1977.
7. Мачарашвили Д.А., Джадieri К.Н., Хапава З.Г. Корреляция ультраструктурных изменений и нарушений минерального гомеостаза в сердечной мышце в условиях общей гипоксии организма. В кн.: Морфология внутренних органов краевой патологии. Сборник научных трудов Ташкентского ордена Трудового Красного Знамени государственного медицинского института. Ташкент, 1988, с.113-119.

ВЫЖИВАНИЕ РАСПРЯЖАЮЩИХСЯ КОЛОНИЙ ПОДВИЖНЫХ БАКТЕРИЙ ПРИ ТОЧЕЧНОЙ ВИРУСНОЙ ИНФЕКЦИИ

Медвинский А.Б., Фитов И.Л., Цыганов М.А.
Институт биологической физики АН СССР, г.Лудино

Исследование устойчивости систем типа "паразит-хозяин" представляет немалый интерес ввиду широкого распространения в природе этого типа отношений /1/. Удобной экспериментальной моделью их изучения является система "фаг-бактерия" /2,3/. Длительное сосуществование в хемостате бактерий и бактериофагов может сопровождаться колебаниями численности обеих популяций /4/. Выживание хозяина при этом связано, по-видимому, с возникновением клона бактерий, резистентных к фагу /3,5/. При точечной вирусной инфекции механизм выживания совершенно иной, что и продемонстрировано в настоящей работе.

Эксперименты проводились с использованием дикого штамма *E. coli* K-12 /6/ и бактериофага T7 /7/. Инфицирование проводилось как в точках инокуляции (сразу и спустя час после посева), так и в точках, расположенных в местах прохождения автоволновых колец хемотаксиса. В некоторых экспериментах использовался штамм *E. coli* J 62 ℓ /8/. Картины действия бактериофага на колонии наблюдались в чашках Петри. Колонии высевались на полужидкую питательную среду (как в работе /9/). Динамика роста и лизиса бактериальных популяций наблюдалась с помощью фотоэлектрокалориметра.

Было показано, что, в отличие от штамма J 62 ℓ , дикий штамм K-12 образует колонии, резистентные по отношению к точечной инфекции бактериофага T7. А именно, инфицирование точки инокуляции спустя час после посева не опосредуется лизисом. Инфицирование же автоволновых колец (фронтов) хемотаксиса сопровождается только локальным лизисом. Он охватывает небольшую область вокруг точки начальной инфекции, не распространяясь ни вдоль фронтов, ни вглубь расширяющейся бактериальной популяции. В результате популяция в целом выживает. Каков механизм этого выживания?

Наблюдения за действием фагов на разных стадиях роста бактериальной популяции показали, что длительность лаг-периода (t_e) при воздействии фага T7 на клетки K-12 (около 35 минут) мало отличается от времени (T_2) удвоения плотности бактерий (в отличие от штамма J 62 ℓ , где $T_2 \gg t_e$). Это означает, что в тех случаях, когда заражение бактериальной культуры проводилось на поздних стадиях фазы экспоненциального роста, культура успевала выйти из этой фазы прежде, чем бактериофаг успевал размножиться. Этот результат хорошо согласу-



ется с наблюдавшимся нами фактом отсутствия колец хемотаксиса в тех экспериментах, когда бактериальный инокулят инфицировался в момент посева.

Таким образом, устойчивость бактериальных колоний по отношению к точечной вирусной инфекции может быть обусловлена не возникновением резистентного клона бактерий, а фазозависимым характером взаимодействия. Этот эффект проявляется тем легче, чем длительнее фаза экспоненциального роста у бактерий и чем больше отношение T_2/t_2 превышает единицу.

Литература

1. Odum E.P. - *Basic Ecology*. Saunders College Publishing, Philadelphia, New York, Chicago, San Francisco, Montreal, Toronto, London, Sydney, Tokyo, Mexico City, Rio de Janeiro, Madrid, 1983.
2. Хлебопрос Т.Р. Трофические взаимодействия в простых микробных экосистемах. - В.: Динамика малых микробных экосистем и их звеньев. "Наука", Новосибирск, 1981, с.81-104.
3. Письман Т.И. Экспериментальное изучение взаимодействий популяций в системе паразит-хозяин. В.: Динамика малых микробных экосистем и их звеньев. "Наука", Новосибирск, 1981, с.104-124.
4. Horne K.T. Co-evolution of *Escherichia coli* and Bacteriophages in Chemostat Culture. - *Science*, v.168, N3934, p.992-993, 1970.
5. Chao L., Levin B.R., Stewart F.M. A Complex Community in A Simple Habitat: An Experimental Study with Bacteria and Phage. - *Ecology*, v.58, №2, p.369-378, 1977.
6. Bachmann B.J. Derivations and Genotypes of Some Mutant Derivatives of *Escherichia coli* K-12. - In.: *Escherichia coli* and *Salmonella typhimurium*. Cellular and Molecular Biology (ed. by F.C.Neidhardt), v.2. American Society for Microbiology, Washington, 1987, p.1190-1219.
7. Тихоненко А.С. - Ультраструктура вирусов бактерий. "Наука", Москва, 1968.
8. Калачев И.Я., Умаров А.М., Бурд Г.И. Взаимодействие мембранных транспортных белков у бактерий *E. coli* K12. - *Биохимия*, т.46, с.732-743, 1981.
9. Цыганов М.А., Медвинский А.Б., Пономарева В.М., Иваницкий Г.Р. Управление пространственными структурами колоний подвижных бактерий *Escherichia coli*. - Доклады АН СССР, т.306, №3, с.731-735, 1989.

ПЕРЕКИСНОЕ ОКИСЛЕНИЕ ЛИПИДОВ И ГЛУТАТИОНОВАЯ ПРОТИВОПЕРЕКИСНАЯ СИСТЕМА СКЕЛЕТНЫХ МЫШЦ КРЫС ПРИ МАКСИМАЛЬНОЙ ФИЗИЧЕСКОЙ НАГРУЗКЕ

В.К.Напханюк, Б.А.Цудзевич

Одесский медицинский институт им. Н.И.Пирогова,
Киевский государственный университет им. Т.Г.Шевченко

В настоящее время известно, что состояние гиподинамии и чрезмерное мышечное утомление животных /1/ и людей /2/ способствует интенсификации процессов ПОЛ. Подтверждением этого положения являются работы, в которых определяли концентрацию пентана в выдыхаемом воздухе, конечного продукта свободнорадикального окисления жирных кислот /3/, а также содержание малонового диальдегида и диеновых конъюгатов в мышцах крыс /4/. Имеются также данные, что предварительное введение препаратов антиоксидантного действия существенно увеличивает продолжительность бега животных /4/. Однако, без изучения состояний систем противоперекисной защиты, которые в физиологических условиях поддерживают реакции ПОЛ на стационарном уровне /5/, трудно судить о возможных механизмах нарушения процессов ПОЛ.

В связи с этим целью настоящей работы было исследование влияния максимального мышечного утомления на содержание диеновых конъюгатов, малонового диальдегида и активность ферментов глутатионовой противоперекисной системы скелетных мышц крыс.

Экспериментальные исследования выполнены на половозрелых крысах-самцах линии Вистар массой 180-200 г, которые были разделены на следующие группы: 1) интактные животные; 2) животные после однократной максимальной физической нагрузки, которую осуществляли в виде бега "до отказа" в тредбане со скоростью движения ленты 34 м/мин. Забой животных осуществляли путем быстрой декапитации в холодовой комнате при температуре $0-4^{\circ}\text{C}$ на пике мышечного утомления и через 30 минут после бега. Быстро на холоде извлекали икрожные мышцы, промывали охлажденным 0,15 М раствором KCl. Гомогенат готовили на 0,15 М растворе KCl, содержащем 3,3 мМ KHCO_3 pH 7,4. Методом дифференциального центрифугирования выделяли митохондрии и цитоплазматическую фракцию /6/. В митохондриях и цитоплазме



определяли содержание диеновых конъюгатов и малонового диальдегида /7/. Цитоплазматическую фракцию использовали для определения активности глутатионредуктазы, глутатионпероксидазы к перекиси водорода /8/. Мышечную ткань, замороженную в жидком азоте, тщательно растирали и 1 г ее помещали в 9 мл 5% метафосфорной кислоты, пробы перемешивали, затем центрифугировали 10 минут при 3000 об/мин. Надосадочную жидкость использовали для определения содержания восстановленного глутатиона /6/.

В результате проведенных исследований установлено, что максимальная физическая нагрузка на пике утомления приводит к повышению содержания диеновых конъюгатов и малонового диальдегида в цитоплазме клеток мышечной ткани в 2 раза. В 2,5 раза возрастает количество указанных продуктов ПОЛ и в митохондриях скелетной мускулатуры. Накопление высоких концентраций продуктов ПОЛ в мембранах этих органелл нарушает их функцию и может быть одним из механизмов, лимитирующих продолжительность мышечной работы /9/. После 30-минутного отдыха наблюдается тенденция к незначительному снижению количества диеновых конъюгатов и малонового диальдегида и в цитоплазме и в митохондриях мышц. Однако, содержание продуктов ПОЛ в этот период еще в значительной степени превышает контрольные показатели. Полученные результаты показывают, что максимальная физическая нагрузка вызывает довольно стойкую интенсификацию процессов ПОЛ в мышечной ткани. Исходя из вышеизложенного, можно сделать предположение, что усиление ПОЛ играет существенную роль в развитии мышечного утомления.

Для более полного представления о метаболических изменениях, происходящих в скелетных мышцах при максимальной физической нагрузке, проведено исследование активности ферментов глутатионовой противоперекисной системы. На пике мышечного утомления активность глутатионредуктазы увеличивается на 34,5%, глутатионпероксидазы на 40%, а количество восстановленного глутатиона возрастает только на 16%. Последнее обстоятельство вероятно связано с очень интенсивным использованием восстановленного глутатиона в реакциях разрушения кислородоактивных соединений, образовавшихся в результате ПОЛ. Через 30 минут активность указанных ферментов незначительно снижается по сравнению с предыдущим сроком, но все еще превышает контрольные



показатели. Сопоставляя полученные результаты содержания продуктов ПОЛ с интенсивностью реакции глутатионовой пероксидазной системы на пике мышечного утомления, можно заключить, что скорость накопления малонового диальдегида и диеновых конъюгатов гораздо выше активности указанной ферментной системы. Вполне вероятно, что в процессе интенсивной мышечной работы наступает перенапряжение, а затем истощение функциональной способности ферментов глутатионовой пероксидазной системы и на пике утомления она не в состоянии полностью разрушить массивное образование продуктов ПОЛ. Одной из причин, способствующих такой интенсификации ПОЛ, может быть наблюдаемое /10/ при тяжелых физических нагрузках усиление биосинтеза и распада атохоламинов. Как известно, при окислении адреналина в адренохром образуются кислородоактивные соединения, способные инициировать свободнорадикальные реакции. Такое несоответствие между скоростью ПОЛ и функционированием ферментов пероксидазной системы может быть одной из наиболее важных причин дестабилизации многих метаболических процессов, в том числе энергообеспечения мышечной ткани, трансмембранного транспорта, что, в свою очередь, способствует потере работоспособности не только скелетных мышц, но и организма в целом. 30-минутный отдых приводит к некоторой стабилизации процессов ПОЛ, а активность ферментов глутатионовой системы примерно соответствует количественному содержанию диеновых конъюгатов и малонового диальдегида. Следовательно, с истечением времени после действия интенсивности образования продуктов ПОЛ снижается и наряду с этим восстанавливается функциональная способность антиоксидантной системы.

Таким образом, полученные результаты свидетельствуют о том, что реакция образования продуктов ПОЛ и содержание их в скелетных мышцах в норме является безупречно сбалансированным процессом, находящимся под строжайшим контролем регуляторных систем. Максимальная физическая нагрузка является мощным фактором, способствующим нарушению системы регуляции липопероксидации и развитию так называемого "синдрома пероксидации." Основываясь на полученных данных, можно полагать, что состояние антиоксидантной системы, ее мощность в физиологических условиях может служить одним из критериев для оценки надежности биологических систем, их устойчивости к воздействию различ-

ного рода экстремальных факторов внешней среды, в том числе и максимальной физической нагрузки.

ЛИТЕРАТУРА

1. Лучевое поражение / Под ред. Ю.Б.Кудряшова. - М.: Изд-во МГУ, 1967. - 230 с.
2. Влияние антиоксиданта на выносливость тренированных и нетренированных к физической нагрузке людей / В.З.Меерсон, В.Е.Коган, Л.Л.Прилипко и др. // Теория и практика физ.культуры. - 1983. - №8. - С. 14 - 17.
3. Gee D.L., Tappel A.L. The effect of exhaustive exercise on expired pentane as measure of in vivo lipid peroxidation in the rat // *Life Sci* - 1981. - 28, № 21. - P. 2425 - 2429.
4. Красиков С.И. Перекисное окисление липидов в скелетных мышцах крыс при максимальной физической нагрузке и его коррекция с помощью ионола // *Укр. биохим. журн.* - 1988. - 60, №1. С. 100 - 102.
5. Журавлев А.И. Развитие идей Б.Н.Тарусова о роли цепных процессов в биологии // *Биоантиокислители в регуляции метаболизма в норме и патологии.* - М.: Наука, 1982. - С. 3 - 37.
6. Методы биохимических исследований / Под ред. М.И.Прохоровой. - Л.: Изд-во Ленингр. ун-та, 1982. - 272 с.
7. Современные методы в биохимии / Под ред. В.Н.Ореховича. - М.: Медицина, 1977. - 392 с.
8. Ферментативные механизмы торможения перекисного окисления липидов в различных отделах головного мозга крыс / А.М.Герасимов, Л.А.Королева, О.С.Бруссов и др. // *Вопр.мед.химии.* - 1976. - №1. С. 89 - 94.
9. Владимиров Ю.А., Арчаков А.И. Перекисное окисление липидов в биологических мембранах. - М.: Наука, 1972. - 257 с.
10. Bora W., Michel C., Saran M. The involvement of oxygen radicals during the autooxidation of adrenalin // *Biochem. et Biophys. acta.* - 1978. - 540. - P. 162 - 172.

УСТОЙЧИВОСТЬ КЛЕТОК КРОВИ К ПОВРЕЖДАЮЩЕМУ ДЕЙСТВИЮ ПЕПТИДНЫХ ПРОДУКТОВ ПРОТЕОЛИЗА

Николайчик В.В., Бычко Г.Н.

НИИ гематологии и переливания крови МЗ БССР, Минск

Для изучения механизмов устойчивости биологических систем используется различные тест-объекты, их таксономическое и гистотипическое разнообразие и полнота методов тестирования дает возможность реализовать идею предсказания детальных видов биологической активности на основании эпиморфного соответствия модели и реального объекта [1]. Принцип эпиморфизма позволяет упростить пути исследования массы химических соединений, влияние которых на устойчивость прогнозируется.

Среди набора применяемых тест-объектов достаточно часто используется донорская кровь и её клеточные компоненты, поскольку на этом клеточно-тканевом уровне хорошо представлены некоторые гомеостатические и биосинтетические системы, системы механической интеграции и адгезии, иммунная система. Следует учесть, что клетки крови находятся в жидкости, обогащенной белками, — плазме. Участие белковой системы плазмы в реакции клеток уделяется сравнительно небольшое внимание. Накопление в плазме активных продуктов может существенным образом сказываться на морфо-функциональных свойствах клеток и иметь прямое отношение к общим проявлениям повреждения.

Основная цель настоящей работы — выявление взаимосвязи молекулярно-массового гомеостаза белков и пептидов с плазменным протеолизом, а также с реакциями устойчивости клеток крови на базе принципов эпиморфизма.

Молекулярно-массовое распределение белков и пептидов группы "средних молекул" (СМ) плазмы исследовали методом гель-хроматографии на сефадексе G-50. Фракции, соответствующие объему выхода ангиотензина — удобного маркера для СМ, собирали и использовали для биотестирования. Осмотическую устойчивость эритроцитов определяли по гипотоническому гемолизу. Неспецифическая мембранотропная активность СМ изучалась в опытах с интеро-дальними клетками харовой водоросли *Nitella flexilis*.

При гель-хроматографии свежезаготовленной плазмы доноров (200 образцов) регистрировали три пика с высокой, средней (пептиды СМ) и низкой молекулярной массой. При хранении крови (60

ОП230

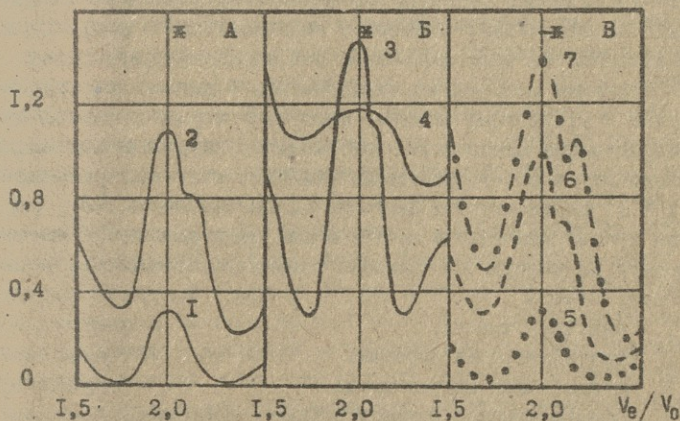


Рис.1. Фрагменты гель-хроматограмм плазмы, сефадекс G-50. А - плазма донора, 1 - свежезаготовленная, 2 - через 21 сутки хранения. Б - плазма больных, 3 - хроническая почечная недостаточность, 4 - перитонит. В - гидролизаты плазмы, 5 - липаза, 6 - трипсин, 7 - плазмин, ж - область выхода маркера - ангиотензина.

образцов) среди этих пиков в наибольшей степени возрастал уровень СМ, превышая исходные значения к 21 суткам в 6-7 раз (рис.1). Мы попытались получить принципиальный ответ на вопрос, в какой мере молекулярно-массовое распределение в плазме связано с действием ферментов, в частности протеиназ, и какова их роль в повреждении морфо-функциональных свойств клеточных компонентов крови. С этой целью плазму обрабатывали растворимыми и иммобилизованными препаратами ферментов (нуклеаз, липаз и протеиназ). Только обработка протеолитическими ферментами приводила к отчетливому возрастанию уровня СМ (рис.1). Т.е. в этих условиях была получена картина изменений, наблюдающаяся при хранении крови и в плазме больных с симптомами интоксикации (почечная недостаточность, панкреатит, перитонит, "синдром исключения"). Ряд использованных нами тестов (гидролиз белков и синтетических пептидов) по определению ак-



тивности протеиназ в процессе хранения крови, а также данные ряда заболеваний подтверждают зависимость накопления СМ от возрастающей активности протеиназ [2]. Совокупность этих данных хорошо иллюстрирует возможность эпиморфных проекций с клеточно-тканевых систем на организм. СМ, выделенные из различных биологических сред, могут оказывать самое разнообразное действие на тканевом, клеточном и молекулярном уровне: ингибирование метаболических процессов - дыхания митохондрий, синтеза и утилизации глюкозы, синтеза гемоглобина; снижение фильтрационной способности эритроцитов; нарушение транспорта аминокислот и ионов; угнетение аппарата клеточного иммунитета и т.д. Вероятно этот перечень далеко не полон [3]. С точки зрения физиологии клетки можно рассматривать 5 мишеней, действуя на которые СМ способны изменять устойчивость биологических систем:

1. Рецепторы клетки.
2. Внутриклеточные системы.
3. Внеклеточная жидкая среда.
4. Неспецифическое взаимодействие с мембраной.
5. Одновременное действие на несколько мишеней.

ГЕМОЛИЗ, %

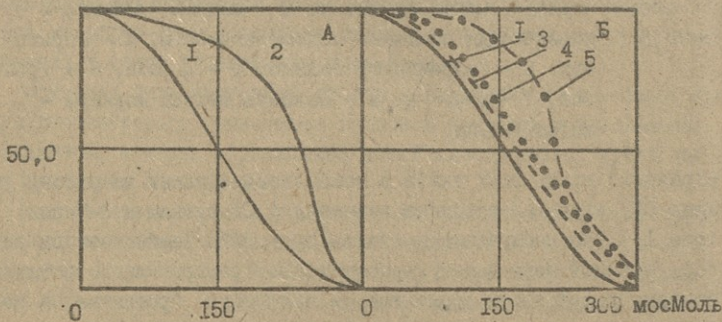


Рис.2. Осмотическая устойчивость эритроцитов к гипотоническому гемолизу. А - эритроциты донорской крови при хранении, 1 - свежезаготовленные, 2 - 21 день хранения. Б - intactные эритроциты донора, обработанные 3 - СМ из плазмы больных хронической почечной недостаточностью, 4 - СМ из плазмы 21 дня хранения, 5 - СМ из гидролизатов фибриногена, 1 - контроль.



Нами использованы удобные и хорошо изученные тест-система - эритроциты и метод - устойчивость к осмотическому гемолизу.

При хранении донорской крови осмотическая устойчивость мембран к гипотоническому гемолизу снижается (рис.2). Аналогичную картину гемолитических изменений получали при обработке свежеполученных эритроцитов фракциями СМ из плазмы доноров и больных, гидролизатов фибриногена; оказалось, что мембраноповреждающее действие СМ является зачастую наиболее универсальным действием этих соединений (рис.2). Обращает на себя внимание тот факт, что наиболее существенный сдвиг гемолитической кривой вызывала обработка эритроцитов фракцией СМ, полученной из гидролизатов фибриногена, - 50% гемолиз регистрировался при 200-210 мосМоль NaCl. В меньшей степени сдвиг гемолитической кривой вызывал СМ из плазмы больных и хранимой крови, возможно, за счет того, что часть СМ, обладающих повышенным сродством к липидной среде, связываются с липофильными структурами мембран и по этой причине практически отсутствуют в плазме, и только при насыщении этих структур появляются в плазме. Исследования, проведенные на клетках *Nitella flexilis*, показали, что выделенные из различных источников, в т.ч. хранимой донорской крови, СМ способны изменять величину потенциала покоя и электрическое сопротивление клеточной мембраны [2, 3, 4]. Выявленное неспецифическое детергентоподобное действие не является единственным возможным для СМ [3, 5, 6], но оно подразумевает лишь поиск унифицированных мер по повышению устойчивости клеток. Причем, исходя из принципа элиморфизма, можно предполагать, что соединения - возможные протекторы могут эффективно продлевать и срок хранения донорской крови, и обладать терапевтической активностью. В последнее время ведутся интенсивные поиски мембранопротекторов, хотя в отношении консервированной крови такие попытки почти не предпринимались. Исследовано протективное действие нескольких групп препаратов - "Милдронат" (синтетический аналог β -бутеробетаина, уже нашедший применение в клинике), кремнийорганические соединения типа ИОС (755, 2464, 2271, 2717), ингибиторы протеолиза (контрикал, эпсилонаминокапроновая кислота и её производные). Защитным действием обладал "Милдронат" - его присутствие при хранении крови стабилизировало такой интегральный показатель, как гематокрит, повышалась осмотическая устойчи-

вость эритроцитов к гемолизу, замедлялся темп накопления СМ (табл.), сохранялся уровень 2,3 ДФГ и АТФ. Исследованные ингибиторы протеолиза эффективно предупреждали наработку СМ, изменение формы клеток, повышали устойчивость к осмотическому гемолизу (табл.). Следовательно, представляется перспек-

Таблица

Осмотическая устойчивость эритроцитов к гипотоническому гемолизу и уровень СМ при хранении крови, заготовленной на различных консервантах.

| Гемоконсервант, условия хранения | Хранение, дни | Осмольность 50% гемолиза, мосмоль/л | СМ, г/л |
|---|---------------|-------------------------------------|-----------------|
| В стандартном гемоконсерванте | 0 | 152,0 \pm 5,0 | 0,38 \pm 0,02 |
| | 2I | 181,0 \pm 9,0 | 1,52 \pm 0,20 |
| С добавкой контрикала, 200 ед.А/мл | 0 | 152,0 \pm 5,0 | 0,38 \pm 0,02 |
| | 2I | 166,0 \pm 7,0 | 0,50 \pm 0,01 |
| В присутствии ТРАСАМ 5 \cdot 10 $^{-4}$ М | 0 | 152,0 \pm 5,0 | 0,38 \pm 0,02 |
| | 2I | 160,0 \pm 3,0 | 0,45 \pm 0,08 |
| В присутствии ЗАКК 1 \cdot 10 $^{-3}$ М | 0 | 152,0 \pm 5,0 | 0,38 \pm 0,02 |
| | 2I | 172,0 \pm 8,0 | 0,86 \pm 0,12 |
| В присутствии Милдроната 2,5 мг/мл | 0 | 152,0 \pm 5,0 | 0,38 \pm 0,02 |
| | 2I | 154,0 \pm 2,0 | 0,40 \pm 0,10 |
| | 35 | 159,0 \pm 9,0 | 0,62 \pm 0,15 |

тивным экспериментальный отбор препаратов подобного рода не только с целью продления сроков хранения крови, но и для предупреждения неспецифического повреждения мембран при критических состояниях в клинической практике.

С позиции эпиморфизма донорская консервированная кровь является удобной моделью для оценки протективной и антидотной активности существующих и вновь создаваемых фармакологических препаратов.

Л И Т Е Р А Т У Р А

1. Баренбойм Г.М., Маленков А.Г. Биологически активные вещества. Новые принципы поиска. - М.: Наука. - 1986. - 364 с.
2. Бычко Г.Н. К метаболизму белков и пептидов при хранении донорской крови: Дис...к.биол.наук. - Минск, 1990. - 170 с.
3. Галактионов С.И., Цейтин В.М., Теонова В.И. и др. Пептиды группы "средних молекул"/Биоорганическая химия. - 1984. - т.10, №. - С.5-17.
4. Галактионов С.Г., Юрин В.М., Николайчик В.В. и др. Неспецифические мембранотропные эффекты олигопептидов//Тез. докл. VI Всесоюз. симпозиума по химии белков и пептидов. - Рига, 1983. - С.232-233.
5. Тушикова З.А. Среднемолекулярные уремические токсины// Вопр.мед.химии. - 1983. - т.29, вып.1. - С.2-10.
6. Беляков Н.А., Владыка А.С., Малахова М.Я. и др. Концентрация в крови и биологическая активность молекул средней массы при критических состояниях организма// Анестезиология и реаниматология. - 1987. - №3. - С.41-48.



МОЛЕКУЛЯРНО-МЕМБРАННЫЕ МЕХАНИЗМЫ ДЕЙСТВИЯ БИОГЕННЫХ
АМИНОВ НА ЦИКЛОЗИС РАСТИТЕЛЬНОЙ КЛЕТКИ

Д.А.Ониани

Тбилисский государственный университет

Разработка теории надежности и устойчивости биологических систем, имеющей как фундаментальное, так и практическое значение, для своего успешного развития требует накопления разносторонних знаний, определяющих функционирование живого организма. Для понимания принципа надежности необходима детализация представлений о сохранении и развитии эволюционных признаков различных организмов / 1 /.

В этой связи представляется весьма целесообразным рассмотреть наши данные, касающиеся установления в растительных клетках (на примере клеток харовой водоросли *Nitella*) систем, имеющих определенную аналогию с адренореактивными системами животной клетки.

Исследовалось влияние адреналина, норадреналина, изадрина и их агонистов - дигидроэрготоксина, индерала, фенитрона и других биогенных аминов на потенциал покоя (ПП) и скорость движения протоплазмы (СДП) клеток *Nitella syncarpa* / 2 /.

Адреналин начинал проявлять свое действие в концентрации 10^{-7} г/мл; наблюдался двухфазный характер развития реакции: довольно быстрое первоначальное падение значения ПП и замедление движения протоплазмы с последующим увеличением величин ПП и СДП, которые достигали максимальных значений к 40 и 45 мин соответственно; затем регистрируемые величины возвращаются к исходным. Повышение концентрации адреналина (10^{-6} - 10^{-5} г/мл) в окружающей среде практически не меняет характер и направление реакции клетки.

Другой представитель катехоламинов - норадреналин в концентрации $2 \cdot 10^{-7}$ г/мл и выше также вызывал двухфазную реакцию клетки. Вначале отмечалось уменьшение СДП и деполяризация клеточной мембраны с последующим увеличением скорости циклозиса и гиперполяризацией мембраны. Через 20-30 мин регистрируемые параметры приходили к начальному уровню.

Обработка клетки изадрином, который в животном организме является стимулятором β -адренорецепторов, в концентрации



10^{-6} г/мл приводила к увеличению скорости движения протоплазмы и ПП клетки. При повышении концентрации изадрина на порядок кривые изменения ПП и СДП также имели двухфазный характер.

Индерал (блокатор β -адренорецепторов) - 10^{-6} г/мл - вызывал первоначальное быстрое уменьшение СДП, сопровождающееся деполяризацией клеточной мембраны, которое сменялось (через 5-10 мин) последующим временным увеличением циклозиса и гиперполяризацией мембраны.

При действии дигидроэрготоксина (α -адреноблокатор) в концентрации 10^{-7} - 10^{-6} г/мл наблюдалось довольно быстрое (5-10 мин) падение величин СДП и ПП с последующим более медленным их увеличением.

Двухфазная реакция клетки отмечается и при обработке клетки фенитроном.

Серотонин в концентрации 10^{-8} г/мл оказывает действия, противоположные рассмотренным выше веществам: вначале наблюдается заметное увеличение величин СДП и ПП по сравнению с контролем. Затем процесс изменения движения скорости протоплазмы и мембранного потенциала носит колебательный характер. По мере увеличения концентрации (10^{-7} - 10^{-6} г/мл) эти колебания более выражены по амплитуде и времени развития реакции.

Качественные представления об устойчивости клетки к испытанным биогенным аминам дает таблица I.

Таблица I

Реакция клетки *N. zungara* на действие испытанных биогенных аминов

| Вещества | :Концентрация в наружном растворе, г/мл | | | |
|---------------|---|-------------|---------------------|-----------|
| | : 10^{-8} : | 10^{-7} : | $2 \cdot 10^{-7}$: | 10^{-6} |
| I | : 2 | : 3 | 4 | : 5 |
| Адреналин | | + | + | + |
| Нор-адреналин | | | + | + |
| Эфедрин | + | + | + | + |
| Серотонин | + | + | + | + |
| Изадрин | | | | + |

| | 1 | 2 | 3 | 4 | 5 |
|-------------------|---|---|---|---|---|
| Индерал | | | | | + |
| Дигидроэрготоксин | | | | | + |
| Ацетилхолин | | + | + | + | + |
| Фенитрон | | + | + | + | + |
| Атропин | | | + | + | + |

Примечание: + достоверные сдвиги III и CДП

Таким образом, наиболее низкие пороговые концентрации характерны для эфедрина, серотонина, ацетилхолина и фенитрона.

Четкие представления о механизмах связи между III и CДП необходимы для понимания природы влияния испытуемого вещества на скорость циклозиса. Всякие изменения величины потенциала покоя влекут за собой сдвиги скорости движения протоплазмы / 3 /.

Для установления эффекта сопряжения реакции III (Ψ) и циклозиса (V) воспользуемся развиваемыми нами модельными представлениями, приведенными в работе / 4 /. Для оценки степени потенциалзависимости сдвигов циклозиса (ΔV), наступающих под действием того или иного соединения, предложен следующий прием. В максимуме функции $\Delta V(t)$

$$k_1 \Delta \Psi(t_V^{\max}) - k_2 \Delta V(t_V^{\max}) = 0 \quad (1)$$

так что

$$\Delta V(t_V^{\max}) = \frac{k_2}{k_1} \Delta \Psi(t_V^{\max}) \quad (2)$$

Если на плоскости ($\Delta V, \Delta \Psi$) нанести n точки, соответствующие значениям ΔV в максимумах и относящиеся к тем же временам t_V^{\max} значения $\Delta \Psi$; то в случае, если реакция циклозиса является строго потенциалзависимой, они должны ложиться на прямую, проходящую через начало координат. Если положение анализируемой совокупности точек существенным образом отклоняется от такой закономерности — это означает, что имеют место эффекты, не опосредованные через сдвиги мембранного потенциала, а обусловленные взаимодействием испытуемого соединения с какими-то структурами, регулирующими скорость циклозиса непосредственно.

Таким образом, представляется возможным в каждом отдельном случае установить, в какой мере наблюдаемые эффекты осуществляются через посредство перерегуляции потенциала, т.е. в конечном счете, через изменения ионных проницаемостей мембраны, а в какой - благодаря наличию иных путей воздействия (например, через нарушение различных звеньев метаболизма, влияние на механические или транспортные характеристики мембран органелл, различные надмолекулярные образования и т.д.).

Для установления эффекта сопряжения на основании рассуждений, рассмотренных выше, были построены графики в координатах $\Delta V(t_V^{max}) \div \Delta \Psi(t_V^{max})$. На рис. I приведены данные, полученные для двух испытанных препаратов - норадреналина и фенитрона.

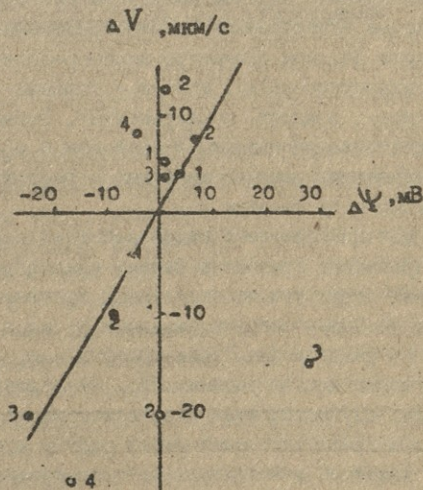


Рис. I. Сопоставление величин сдвигов ΔV в экстремумах с соответствующими им значениями сдвигов $\Delta \Psi$ в случае реакции клеток на ацетилхолин (○) и фенитрон (●) в концентрации 10^{-8} (1), 10^{-7} (2), 10^{-6} (3) и 10^{-5} (4) г/мл

04935740
3120000335

Из анализа наших результатов следует, что испытанные био-
генные амины можно расположить в следующий ряд по мере возрас-
тания непосредственного эффекта на циклозис: фенитрон < ин-
дерал < атропин < дигидроэрготоксин < адреналин <
эфедрин < изадрин < норадреналин < серотонин < аце-
тилхолин.

Если у первых двух членов этого ряда фенитрона и индерала
обсуждаемая зависимость поступает достаточно четко с одинако-
вым наклоном $\delta = -1$, то у замыкающих его (серотонин и ацети-
холин) не обнаруживается даже ее следов. Практически отсутству-
ет она и в случае норадреналина; из природных биорегуляторов
лишь адреналин проявляет некоторые признаки опосредованного
действия на циклозис.

Нам представляется важным следующее обстоятельство: если
разделить исследуемые адреномиметики на две группы - действу-
ющие на циклозис опосредованно и непосредственно, то первую
из них образуют целиком блокаторы адренорецепторов (фенитрон,
индерал, дигидроэрготоксин), вторую - сильные агонисты (ад-
реналин, эфедрин, изадрин, норадреналин). Отсюда можно посту-
лировать существование известной аналогии в организации струк-
тур, обуславливающих реакцию животных и растительных клеток
на катехоламины и их аналоги.

С целью детализации механизмов действия соединений обеих
групп нами проведено сравнение физико-химических характеристик
и особенностей структуры исследованных соединений. Так, были
сопоставлены величины энергии переноса H_2 из водного окружения
на поверхность раздела фаз "вода-липофильная среда" с порого-
выми действующими концентрациями C_1^H . Оказалось, что ни в груп-
пе соединений, осуществляющих свое действие на скорость движе-
ния цитоплазмы преимущественно через сдвиги потенциала покоя,
ни в группе веществ, действующих непосредственно, не наблюда-
лось выраженной зависимости активности от амфифильных свойств;
можно лишь отметить, что вторая группа представлена в среднем
более полярными веществами (рис.2).

Другим фактором, обуславливающим отличие в механизмах дей-
ствия агонистов и блокаторов, могут быть различия конформа-
ционных возможностей их молекул.

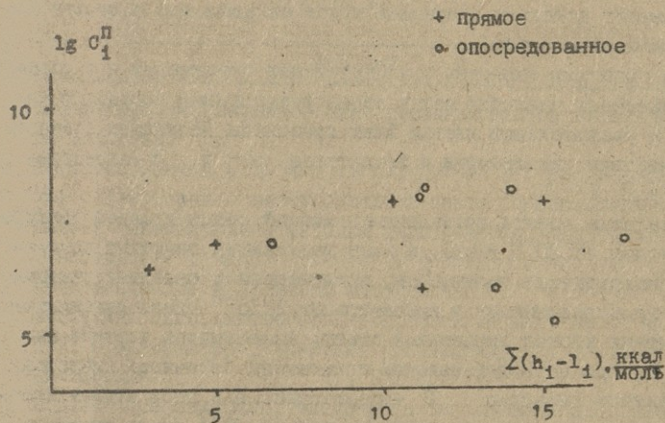


Рис. 2. Зависимость между амфифильностью испытанных препаратов и логарифмом пороговой концентрации

Сопоставление наборов стабильных конформаций двух молекул типичных представителей обеих групп - изадрина и фенитрона - показало, что для этих соединений возможна реализация низкоэнергетических структур, которые обеспечивают достаточную комплементарность модели адренорецепторов, предложенной Пьюлманом с сотр. / 5 /. В молекуле фенитрона несколько иначе ориентирован O^p -атом, обладающий к тому же иными, чем у адреносиметиков, электростатическим зарядом и реакционными свойствами. Иными словами, можно предположить, что молекула фенитрона, будучи способной связываться с рецепторами животной клетки, не вызывает в силу отмеченных обстоятельств вторичного сигнала, т.е. действует по механизму конкурентного антагонизма / 6 /.

Аналогичное предположение можно высказать и в отношении действия фенитрона на дилюзис.

Не исключено, в частности, что такие центры взаимодействия являются элементами транспорта аминов через мембрану, существование которой показано у клеток *Nitella* / 7 / и которая может быть ответственной за перенос катехоламинов. В этом случае



факт прямого действия адреномиметиков на циклолиз получает естественное объяснение.

Для проверки гипотезы о конкурентных отношениях и в поисках дальнейших аналогий между адренореактивными системами животной и растительной клетки были проведены испытания совместного действия активаторов и блокаторов α - и β -адренорецепторов / 2 /.

Обработка клеток сравнительно низкой концентрацией дигидроэрготоксина ($5 \cdot 10^{-8}$ г/мл), еще не вызывавшей заметных изменений регистрируемых параметров, предотвращала развитие реакции клетки на норадреналин в концентрации $2 \cdot 10^{-6}$ г/мл, вызывавшей у интактных клеток выраженный ответ. Аналогичная картина наблюдалась при последовательном применении блокатора (индерал) и активатора (изадрин, β -рецепторов. И в этом случае клетка, обработанная низкой концентрацией ($5 \cdot 10^{-7}$ г/мл) индерала, теряла чувствительность к изадрину (10^{-5} г/мл).

Дигидроэрготоксин ($5 \cdot 10^{-8}$ г/мл) не вызывал полной утраты чувствительности к адреналину в концентрации 10^{-6} г/мл; это можно объяснить тем обстоятельством, что адреналин активен как в отношении α - , так и β -рецепторов.

Изменение порядка применения агентов в тех же парах "антагонист-агонист" привела к подавлению в обоих случаях реакции, наступавшей под действием агониста.

Совокупность приведенных данных легко может быть объяснена на основании гипотезы о существовании в клетке *Nitella* центров взаимодействия с молекулами катехоламинов, подобных α - и β -рецепторам животных клеток, причем это подобие распространяется как на структурную организацию, так и на некоторые функциональные особенности.

Основные доводы в пользу такой гипотезы резюмированы в таблице 2.

Таблица 2

Признаки наличия в клетках *Nitella zosterifera* систем, аналогичных адренэргическим системам животных клеток

| № : | Признак |
|-----|--|
| I. | Действие блокаторов адренорецепторов на СДП проявляется опосредованно, через сдвиги потенциала покоя; в случае |

№ : Признак

активаторов адренорецепторов признаки такого опосредования не выражены.

2. Конформационные возможности блокатора α -адренорецепторов - фениторна - таковы, что он может образовывать комплекс с пальмановской моделью адренорецепторов, однако не обеспечивает должной ориентации функциональных групп, ответственных за внутреннюю активность.
 3. Адrenomиметики, активные в отношении только α - или только β -рецепторов, вызывают противоположную по знаку реакцию клетки.
 4. Эффект норадреналина, активатора α -рецепторов, снимается блокатором этих рецепторов дигидроэрготоксином; аналогичным образом, действие активатора β -рецепторов изадрина не проявляется в присутствии индерала - характерного блокатора β -рецепторов.
 5. Для снятия действия адреналина, активного в отношении обоих типов рецепторов, необходимо совместное применение дигидроэрготоксина и индерала.
 6. Действие блокаторов, как факторов подавления реакции клетки на адrenomиметики, проявляется в концентрациях, на порядок ниже тех, которые вызывают ответ клетки при применении только блокаторов; тем самым можно предположить, что в этом случае мы имеем дело с проявлением их неспецифичного мембранотропного действия.
-

Следует обратить внимание на то обстоятельство, что факт непосредственного действия соединения на циклозис можно трактовать как признак его проникновения в цитоплазму (хотя в принципе возможны исключения). Тем самым, справедливо предположить, что блокаторы, действующие всегда опосредованно, либо не переносятся транспортными системами через мембрану, либо, попав в цитоплазму, не вызывают влияния на системы, обуславливающие циклозис. Первое предположение нам кажется более предпочтительным. Отметим, что у животных клеток существуют системы активного транспорта катехоламинов, причем этот процесс может быть подавлен ингибиторами, действующими по механизму конку-

рентного антагонизма / 8 /.

Таким образом, из анализа приведенных результатов представляется возможным постулировать аналогию в организации структур, обуславливающих реакцию животных и растительных клеток на катехоламины и их аналоги.

Литература

1. Системы надежности клетки // под ред. Д.М.Гродзинского. Киев: Наукова думка. 1977.
2. Ониани Д.А. Физико-химические механизмы регуляции циклозиса растительной клетки. Дис...докт.биол.наук. 1987. Тбилиси. 324 с.
3. Черняева Е.Б. Нестационарный режим подвижности протоплазмы в клетках харовых водорослей. Автореф.дис...канд.физ.-мат. наук. М.1984. 18 с.
4. Ониани Д.А., Плакс А.В., Конева Е.С. // Биофизика. 1986. т.31. с.361-362.
5. Pullman B., Coubeits J.-L. et al. // J. Med. Chem. 1972. v.15. p.17-23.
6. Ониани Д.А., Шибут В.П. // Изв. АН СССР, сер.биол., 1987. т.13. с.131-134.
7. Кудряшов А.П. Транспорт аминов в клетках *Nitella flexilis*. Автореф.дис...канд.биол.наук.Минск 1985. 19 с.
8. Жоров Б.С. // Биоорганическая химия. 1983. т.9. с.200-216.



ИЗУЧЕНИЕ СТЕПЕНИ ЗАГРЯЗНЕНИЯ ВОДНОЙ СРЕДЫ СПОСОБОМ ЭЛЕКТРОПЛАЗМОГРАФИЧЕСКОГО ТЕСТИРОВАНИЯ

Ониани Д.А., Кудряшов А.П., Гушина Л.Н., Кудряшова Н.Н.,
Беселя М.Г.

Тбилисский государственный университет им. И. Джавахидови
Институт экспериментальной ботаники им. В.Купревича АН БССР,
г. Минск.

До настоящего времени нормативные документы, используемые для установления присутствия опасных для живых организмов токсикантов, базируются на предельно допустимых концентрациях (ПДК). Однако, ПДК в воде водоемов установлены всего лишь для 800 соединений, тогда как ежегодно синтезируется около 40 000 новых соединений. К этому следует добавить трудно поддающиеся учету побочные продукты органического синтеза, пищевой промышленности и т.п. В результате сегодня в водоемах находятся многочисленные соединения и их комплексы, биологическое действие которых неизвестно.

Поэтому одним из эффективных приемов, используемых для оценки степени и характера загрязнения, является биологическое тестирование. Последнее предполагает эксперимент, в котором организмы, выращенный в заведомо чистой воде, помещается в испытываемую пробу, в о присутствии загрязняющих веществ судят по наступившим реакциям этого организма.

В этой связи для тестирования загрязнения водной среды различными химическими соединениями нами был разработан и реализован электроплазмографический способ.

В качестве тест-объекта брались клетки харовых водорослей, в частности *Nitella*. Подготовка объекта исследования проводилась по следующей стандартной схеме. За 1-2 суток до опыта 2-3-я интернодальные клетки отделялись от соседних, удалялись боковые мутовки, после чего клетки переносились в искусственную прудовую воду (ИПВ) состава: $10^{-4}M$ KCl, $10^{-3}M$ NaCl и $10^{-4}M$ CaCl₂.

Регистрацию разности электрических потенциалов (Ψ) клеточной мембраны проводили с помощью внеклеточных электродов /1/. Скорость движения протоплазмы (V) измерялась по времени прохождения частиц между двумя делениями на стандартном окуляр-микрометре по методу Штруггера /2/.

После укладки в экспериментальную камеру клетка помещалась в растворе ИПВ до установления стационарных величин циклоза (50-55 мкм/с) и РЭП (-120 - -150 мВ). Затем на клетку действовали образцами вод различного разбавления по схеме: контроль (ИПВ) → контроль+проба воды, разбавление 10^4 раз → контроль → контроль+проба воды, разбавление 10^{3-1} раз → контроль → и т.д.

Эксперименты проводились при комнатной температуре ($21 \pm 1^\circ\text{C}$), постоянных величинах pH ($7,0 \pm 0,1$) и освещенности (300 ± 10 лк).

Испытывались образцы сточных вод различных цехов одного из предприятий микробиологического производства. Образцы вод цеха №10 при разбавлении 10^4 раз вызвали небольшую гиперполяризацию мембраны (8 мВ), сопровождающуюся увеличением скорости циклоза ($\Delta V = 10$ мкм/с). Обработка клеток образцами вод цеха №10 при меньших разбавлениях и пробами вод цеха №2 приводила к падению потенциала (деполяризация мембраны) и уменьшению скорости движения протоплазмы. Стоки цеха №2 вызвали весьма специфический биоэлектрический ответ - появления одиночных ритмических колебаний потенциала; переход в этот режим происходил после добавления испытуемой пробы при разбавлении 10^{2-1} раз (рис.1).

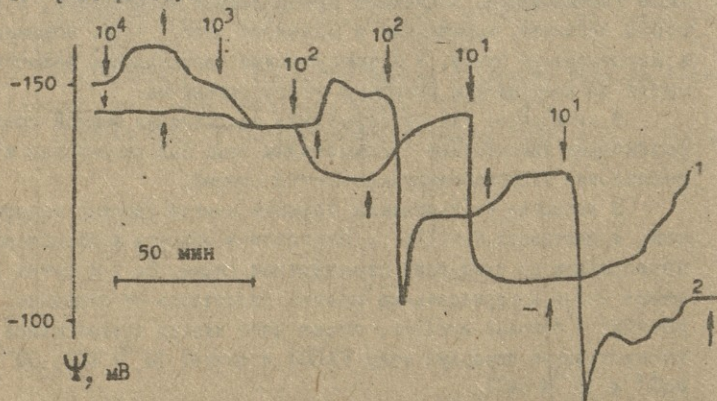


Рис.1. Развитие биоэлектрической реакции клетки на действие проб воды цеха №10 (1) и цеха №2 (2). Цифрами указана кратность разбавления, а стрелками момент введения (↑) и удаления (↓) испытуемой пробы воды из экспериментального отсека

Используя подходы, приведенные в работе /3/, можно на основании полученных данных провести классификацию наблюдаемых эффектов по характеру их действия.

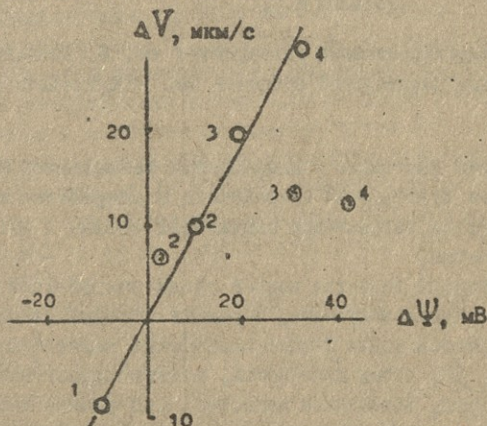


Рис.2. Сопоставление величин сдвигов ΔV в экстремумах с соответствующими им значениями сдвигов $\Delta\Psi$ на действие проб воды цеха №10 (O) и цеха №2 (⊙) при различных разбавлениях: 1 - 10^4 , 2 - 10^3 , 3 - 10^2 и 4 - 10^1 раз.

Анализ полученных результатов показывает, что пробы вод цеха №10 при разбавлениях 10^4 - 10^1 раз оказывают опосредованное действие через мембранный потенциал. При действии проб воды цеха №2 во всех вариантах отмечаются сдвиги, обусловленные взаимодействием химических агентов со структурами, непосредственно регулирующими скорость циклаза.

Литература

1. Брин В.М. // Вестн АН БССР. Сер. биол. н. 1979. №6. С. 108.
2. Штруггер З. Практикум по физиологии растительных клеток и тканей. М.: ИЛ. 1953.
3. Ониани Д.А. Физико-химические механизмы регуляции циклаза растительной клетки: Дис. ... докт. биол. наук: 03.00.02. - Тбилиси. 1987. - 324с.

СРАВНИТЕЛЬНЫЙ АНАЛИЗ МЕТОДОВ ОЦЕНКИ КАЧЕСТВА ВОД:
ГИДРОХИМИЧЕСКИЙ И ЭЛЕКТРОАЛЬГОЛОГИЧЕСКИЙ

Онгиани Д.А., Кудряшов А.П., Гулина Л.Н., Кудряшова Н.Н.,
Беселия М.Г.

Тбилисский государственный университет им. И. Джавахидзе
Институт экспериментальной ботаники им. В.Купревича АН БССР, г.Мн.

В условиях постоянно усиливающейся техногенной нагрузки все настоятельнее чувствуется потребность в разработке эффективных средств контроля загрязнения окружающей среды, в частности водного бассейна.

Для контроля качества водной среды разработаны соответствующие нормативные документы, в рамках которых основными показателями являются такие физико-химические характеристики, как температура, рН; общая щелочность, электропроводность, растворенный кислород, взвешенное вещество, содержание хлоридов, фторидов, ртути, свинца, ароматических углеводородов и т.д. [1, 2, 3]:

В настоящее время все большее внимание исследователей привлекают методы биологического контроля, на основании которых возможно произвести интегральную оценку качества воды.

Однако, каждый тест-объект и каждая тестовая процедура реагирует лишь на некий ограниченный круг токсикантов [4], т.е. каждый биотест характеризуется устойчивостью к определенным видам загрязнителей и требование универсальности биологических реакций совершенно неоправданно.

Таким образом, для осуществления эффективного биологического контроля необходимо сопоставить чувствительность тест-реакции с показателями химического анализа и на основании полученных данных провести подбор биотестов в соответствии с конкретными задачами и условиями.

В этой связи в настоящей работе предпринята попытка провести сравнительный анализ данных гидрохимического анализа и показателей биоэлектрической реакции клеток харовой водоросли *Nitella* на примере образцов вод некоторых прудов Новочеркасского рыбокомбината и р.Акса́й.

Методика регистрации биоэлектрической реакции подробно описана в работе [5].

При действии испытанных проб волч зарегистрированы сдвиги электрических параметров протоплазматической мембраны клеток *Nitella*. Отмечена определенная связь между величиной сдвигов разности электрических потенциалов мембраны и содержанием тяжелых металлов и металлов переходной группы (Pb, Cu, Zn, Cd) в пробах воды. Так, пробы воды из нагульных прудов IО и I7 вызвали деполаризацию на 18 и 28 мВ соответственно; содержание ионов металлов в них было: Pb²⁺ - 4 мкг/л и 8 мкг/л; Cu²⁺ - 6 мкг/л и 23 мкг/л; Zn - 32 мкг/л и 38 мкг/л; Ca²⁺ - 1,9 мкг/л и 0 соответственно.

Пробы воды из выростного пруда вызвали более слабую деполаризацию - 10 мВ; содержание же металлов в ней было: Pb²⁺ - 3 мкг/л, Zn²⁺ - 32 мкг/л, Ca²⁺ - 0,25 мкг/л и Cu²⁺ - 4 мкг/л.

При деполаризирующем действии (II-12 мВ) проб воды р.Аксаи содержание меди было 3 мкг/л, цинка - 0,25 мкг/л, свинца - 8 мкг/л, кадмия - 0 мкг/л.

Таблица

Результаты гидрохимического анализа проб воды

| № | рН | рСО ₂ | НСО ₃ | Сl | SO ₄ | Ca ²⁺ | Mg ²⁺ | Na ⁺ | K ⁺ | Cu ²⁺ | Zn | Ca ²⁺ | Pb ²⁺ |
|----------------------|------|------------------|------------------|-----|-----------------|------------------|------------------|-----------------|----------------|------------------|------|------------------|------------------|
| | | | | | | | | | | | | | |
| Водозабор | 8,07 | 295 | 203 | 120 | 192 | 76 | 32 | 98 | 8 | 6,0 | 50,0 | 0,1 | 4,0 |
| Зимовальный пруд №19 | 7,7 | 338 | 198 | 126 | 173 | 76 | 32 | 92 | 8 | 54,0 | 80,0 | 4,0 | 26,0 |
| Маточный пруд №3 | 8,4 | 290 | 207 | 126 | 173 | 60 | 30 | 115 | 11 | 7,0 | 70,0 | 0,1 | 4,0 |



Пробы воды из водозабора и маточного пруда (МП) № 3 показали деполаризацию менее 10 мВ (8 и 9 мВ, соответственно), причем под действием пробы МП наблюдалось незначительное увеличение сопротивления мембраны (с 629 кОм в контроле, до 650 кОм). В то же время, под действием пробы воды из зимовального пруда № 19 (ЗП) электрический потенциал на мембране снизился на 14 мВ, отмечено также падение сопротивления мембраны до 560 кОм.

В пробе воды ЗП 19 отмечены заметные отклонения от нормы гидрохимических показателей (табл.). Причем содержание ионов меди выше, чем в пробе из водозабора в 9 раз, а свинца - в 6,5 раза.

Таким образом, приведенные данные свидетельствуют о связи между показателями биоэлектрической реакции клеток *Nitella* и общим содержанием загрязнителей в исследуемых образцах вод.

Литература

1. Верниченко А.А., Лозанский В.Р. //Контроль качества природных и сточных вод. Харьков, 1982. С.3-12.
2. Верниченко А.А., Старко В.В. / там же. С.14-20.
3. Васильева Т.Б. Токсико-генетическая оценка качества водной среды с использованием альготестов (на хлорелле); Дис.... канд.биол.наук. Москва. 1988; С.149.
4. Альберт Э. Избирательная токсичность. М.: Мир. 1971. 432 с.
5. Юрин В.М., Иванченко В.М., Галактиков С.Г. Регуляция функций мембран растительных клеток. Минск: Наука и техника. 1979. 200 с.



О РОЛИ H^+ -АТФазы ПЛАЗМАТИЧЕСКИХ МЕМБРАН В УСТОЙЧИВОСТИ КЛЕТОК РАСТЕНИЙ К НИЗКИМ ПОЛОЖИТЕЛЬНЫМ ТЕМПЕРАТУРАМ

Опретов В.А., Крауз В.О., Худяков В.А., Пятыйгин С.С.

Горьковский государственный университет

Формирование устойчивости растений к низким положительным температурам включает комплекс изменений, затрагивающих различные клеточные системы [1]. Среди них существенное место принадлежит плазматическим мембранам (ПМ) [2]. Последние, как известно, определяют наиболее жизненно важные свойства клетки, такие как обмен веществами с внешней средой, электрогенез, рецепцию гормонов, взаимодействие с другими клетками и т.д.

В процессе адаптации клеток растений к низким температурам в их ПМ происходит ряд процессов, направленных на обеспечение возможности функционирования мембранных систем (ферментов, каналов, переносчиков и др.) в холодовых условиях. Особенно существенны, по-видимому, изменения, возникающие в мембранных липидах, состояние которых, как известно, в сильной степени влияет на работу целого ряда мембраносвязанных ферментов [3]. Показано, что в процессе холодной адаптации наблюдается увеличение степени ненасыщенности мембранных липидов [4,5], что связано в первую очередь с изменением их состава [6]. Вместе с тем остаются слабо выясненными пути, по которым изменения в состоянии мембранных липидов (а также некоторых других компонентов) приводят при холодной закалке ПМ растительной клетки в состояние, адаптированное к низким температурам. В настоящей работе приводятся результаты исследований, которые выявляют важную роль в этом отношении электрогенных мембранных систем, в частности H^+ -АТФазы.

Опыты проводили с 10-12-дневными проростками тыквы (*Cucurbita pepo L.*), выращенными гидропонным способом на керамзите в питательном растворе. Выращивание проростков до 7-дневного возраста проводили при $28^{\circ}C$. Далее проростки разделяли на две группы, у одной из которых температуру выращивания оставляли прежней ($28^{\circ}C$), а у другой снижали до $17^{\circ}C$. В указанных температурных условиях проростки обеих групп находились до 10-12-дневного возраста, по достижении которого их использовали в эксперименте.

Измерение потенциала покоя (E_m) клеток паренхимы стебля и эпидермиса корней проростков тыквы производили внутриклеточно

с использованием стеклянных микроэлектродов с диаметром кончика около 1 мкм, заполненных раствором 3М KCl. Микроэлектроды вводили в клетки стебля или корня тыквы с помощью механического микроманипулятора комплекса КМ-2. Введение микроэлектрода контролировали визуально при 225-кратном увеличении микроскопа. Сигнал регистрировали высокоомным усилителем У5-9 и записывали на ленте потенциометра КСП-4.

Изучение динамики электрической активности клеток корней и стеблей тыквы проводили на целом растении с использованием внеклеточных хлорсеребряных макроэлектродов ЭВМ-1М2. Один электрод контактировал с поверхностью корня в зоне корневых волосков, другой помещали на стебле проростка в 1 см от его корневой шейки. Измеряемая при этом разность электрических потенциалов (ΔU) между корнем и стеблем отражала изменение E_m соответственно клеток корня или стебля в зоне действия приложенного раздражителя. Регистрацию изменения ΔU осуществляли с использованием высокоомного усилителя ЭВ-74 и самопишущего потенциометра КСП-4.

О природе изменений E_m и динамики электрической активности клеток корней и стеблей тыквы судили по результатам ингибиторного анализа с использованием растворов 3 мМ азидата натрия (NaN_3), $5 \cdot 10^{-5}$ М и 10^{-3} М дициклогексилкарбодимида (ДЦКД), 10^{-6} М карбониллицианидхлорфенилгидразона (КЛХФГ), $5 \cdot 10^{-4}$ М ортованадата натрия (Na_3VO_4), $5 \cdot 10^{-5}$ М диэтилстилбестрола (ДЭС).

Изолированную фракцию ПМ выделяли по молотфицированному методу Леонарда-Хотчкисса в градиенте плотности сахарозы [7] и клеток стеблей проростков тыквы. Среда выделения фракции ПМ содержала 0,5М сахарозу, 0,025М трис-HCl, 0,003М ЭТА, 0 концентрации выделенных мембран судили по белку, который определяли методом Лоури с поправкой на сахарозу [8].

Состояние липидов ПМ оценивали флуоресцентным методом с использованием зонда пирена [9]. К суспензии ПМ, концентрация которых составляла 0,2 мг белка/мл, при постоянном перемешивании добавляли спиртовой раствор пирена до конечной концентрации 10 мкМ (этанол-1%). Пирен, связанный с мембранами, возбуждали светом длиной волны $\lambda = 319$ нм. Интенсивность флуоресценции мономерной формы регистрировали при $\lambda = 395$ нм, эксимерной формы при $\lambda = 465$ нм в условиях постепенного охлаждения со скоростью 2 град/мин. Измерения проводили на спектрофотометре *Spectra M 40* с флуоресцентной приставкой.

АТФазную активность мембранной фракции клеток стеблей проростков тыквы измеряли потенциометрическим методом по начальной скорости реакции гидролиза АТФ [II].

Ингибиторный анализ позволил выявить значительный вклад электрогенной компоненты в генерацию потенциала покоя (E_m) как в стеблях, так и в корнях опытных растений. При этом было показано, что в клетках паренхимы стеблей и эпидермиса корней тыквы E_m достигает $-130 \div -150$ мВ и сильно снижается под влиянием не только ингибиторов, блокирующих энергообеспечение электрогенных насосов (NaN_3) или АТФазные системы (Na_3VO_4), но и под влиянием агентов, действующих непосредственно на H^+ -АТФазу (ДЦКД) или величину протонного градиента (КЦХФГ). Последнее обстоятельство указывает на существенную роль в электрогенезе клеток изучаемого объекта H^+ -АТФазы.

Роль данной электрогенной системы в генерации E_m отчетливо выявляется при анализе динамики электрической активности в присутствии агентов, влияющих на работу протонной помпы. Так при действии на клетки корней $5 \cdot 10^{-5}$ М ДЦКД и 10^{-6} М КЦХФГ наблюдается весьма резкая и значительная деполяризация, которая под влиянием ДЦКД носит устойчивый характер, а в присутствии КЦХФГ проявляет заметную тенденцию к уменьшению. Это можно связать с тем, что первый ингибитор действует непосредственно на H^+ -АТФазу, блокируя её протонный канал. В то же время второй ингибитор оказывает косвенное влияние, увеличивая протонную проводимость мембраны, т.е. шунтируя работу H^+ -АТФазы, что приводит, очевидно, к закислению внутренней среды и частичной активации этой ферментной системы.

Существенный вклад H^+ -АТФазы в электрогенез клеток стеблей и корней позволил предположить, что изучение биоэлектрической активности в сочетании с ингибиторным анализом позволит выявить характер изменения этой ферментной системы в ходе адаптации растений к низким температурам.

Было установлено, что ингибиторы H^+ -АТФазы ПМ клеток растений ДЭС и ДЦКД (рис. I) по разному действуют на биоэлектрическую активность стеблей и корней растений тыквы, выращенных в условиях высокой ($28^\circ C$) и низкой ($17^\circ C$) температур. Если в первом случае оба ингибитора вызывают значительную деполяризацию, которая особенно выражена в стеблях, то во втором их эффект был значительно меньше.

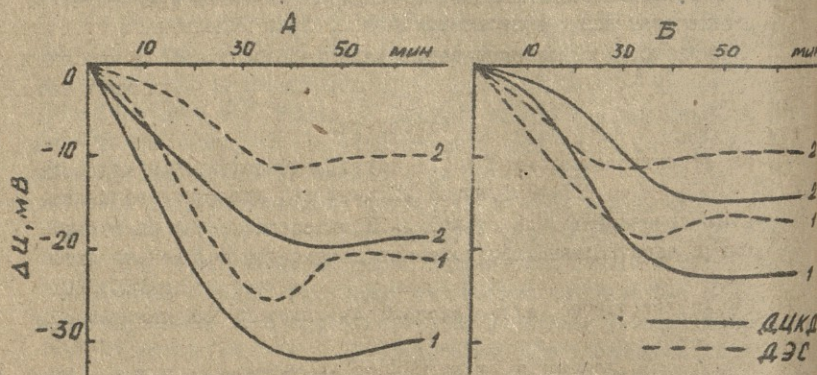


Рис. 1. Динамика изменения ΔU клеток стеблей (А) и корней (Б) проростков табака при действии на стебли или корни $5 \cdot 10^{-5} M$ ДДКД и $5 \cdot 10^{-5} M$ ЛЭС.
 1 - проростки, выращенные при $28^{\circ}C$,
 2 - проростки, выращенные при $17^{\circ}C$.

Таким образом у адаптированных к пониженной температуре растений H^{+} -АТФаза более устойчива к действию ингибиторов. Это связано, по-видимому, с модификацией молекулы фермента. На возможность такой модификации при действии низких температур имеются указания в литературе [12].

Причиной модификационных изменений молекулы H^{+} -АТФазы, обеспечивающих её большую устойчивость и, по-видимому, лучшее соответствие измененным температурным условиям, являются, очевидно, сдвиги в состоянии липидного матрикса ПМ. Влияние состояния липидного матрикса ПМ на работу мембраносвязанных АТФаз хорошо видно из сопоставления аррениусовских кривых температурной зависимости отношения интенсивностей флуоресценции эксимерной и мономерной форм связанного с ПМ ширена (I_3/I_M) и АТФазной активности (рис. 2). На кривой $I_3/I_M = f(T)$ растений, выращенных при $28^{\circ}C$, имеет место перелом при $17,5^{\circ}C$, что свидетельствует о термотропной структурной перестройке мембранных липидов. Интересно, что у этих растений примерно при той же температуре ($18,5^{\circ}C$) происхо-



дит резкое изменение АТФазной активности ПМ. Таким образом, структурная перестройка в мембранных липидах в значительной степени, по-видимому, лежит в основе изменения уровня работы мембранных АТФаз.

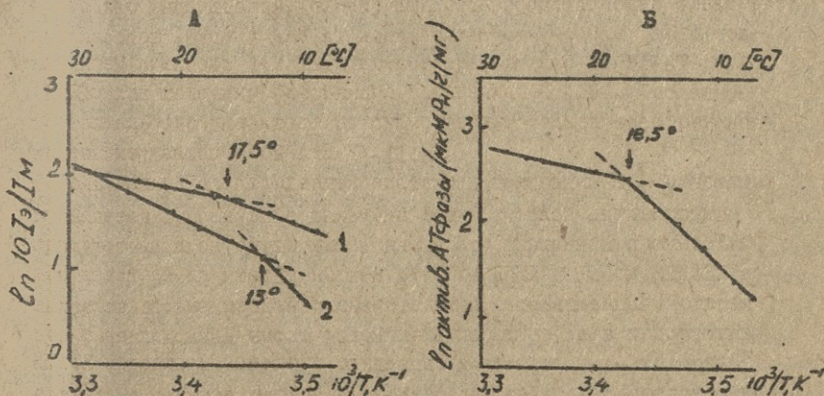


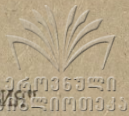
Рис. 2. А - Температурная зависимость величины J_3/dm пирена липидов ПМ проростков тыквы, выращенных при 28°C (1) и 17°C (2);
 Б - Температурная зависимость АТФазной активности ПМ проростков тыквы, выращенных при 28°C.

Анализ термотропных структурных перестроек липидов ПМ клеток стеблей проростков тыквы, выращенных при 28°C и 17°C, показал, что под влиянием холодового воздействия температура этих перестроек смещается в сторону более низки значений (с 17,5°C до 13°C). В свете вышесказанного это позволяет допустить, что у "засталенных" растений и перелом на температурной кривой АТФазной активности также смещается в сторону более низки температур. Следовательно, H⁺-АТФазная система изменяет свои свойства в соответствии в изменившемся температурном режиме, что позволяет ей осуществлять функции на необходимом уровне. Поскольку от работы H⁺-АТФазы в сильной степени зависят другие функции

ПМ (вторичный активный транспорт, генерация ЦД, электрогенез и др.), то модификация этой ферментной системы у адаптированных к холоду растений обеспечивает более успешное осуществление этой функции.

Литература

1. Дроздов С.Н., Курец В.И., Титов А.Ф. // Терморезистентность активно вегетирующих растений. Л.: Наука, 1984, 168 с.
2. Гулевский А.К., Бондаренко В.А., Белоус А.М. // Барьерные свойства биомембран при низких температурах. Киев: Наукова думка, 1988, 257 с.
3. Sandermann H. // *Biochim. et Biophys. Acta.* 1978. V. 115, N3. P. 209-237.
4. Pearce R.S. // *Cryobiology.* 1986. V. 23, N6. P. 544-545.
5. Williams J.P., Khan M.U., Mitchell K., Johnson G. // *Plant Physiol.* 1988. V. 87, N4. P. 904-910.
6. Lynch D.V., Steponkus P.L. // *Plant Physiol.* 1987. V. 83, N4. P. 761-767.
7. Leonard R.T., Hotchkiss C.W. // *Plant Physiol.* 1976. V. 58, N3. P. 331-335.
8. Gerhardt B., Beevers H. // *Anal. Biochem.* 1969. V. 23, N1. P. 193-195.
9. Добрецов Г.Е. // Флуоресцентные зонды в исследовании клеток, мембран и липопротеинов. М.: Наука, 1989, 275 с.
10. Литвинов И.С., Образцов В.В. // *Биофизика.* 1982. Т. 27. В. I. С. 81-85.
11. Транспортные аденозинтрифосфатазы. Современные методы исследования. МГУ. 1977, 194 с.
12. Uemura M., Yoshida S. // *Plant Physiol.* 1986. V. 80, N1. P. 187-195.



ПУЛЬСИРУЮЩИЕ ДИССИПАТИВНЫЕ СТРУКТУРЫ В СИСТЕМЕ "РЕАКЦИЯ-ДИФФУЗИЯ"

А.В.Панфилов, Р.Н.Храмов

Институт биологической физики АН СССР, г.Пушкино Московской обл.
Временный научный коллектив "Отклик", г.Киев.

В последнее время, в связи с проблемами морфогенеза, онтогенеза эмбриогенеза и т.д., значительно возрос интерес к явлениям самоорганизации - т.е. к возникновению и эволюции пространственных структур под действием внешних параметров /1/. При этом большое число работ посвящено пространственным структурам, возникающим в системах реакция-диффузия при соответствующем выборе коэффициентов диффузии и кинетики системы /2,3/. Важным является исследование возможных типов таких структур, изучение условий их возникновения, гибели, исследование способов управления ими за счет внешних воздействий /4/. Большой интерес представляет действие миллиметрового излучения электромагнитных волн на параметры определяющие характер таких структур /4,5/.

К настоящему времени наиболее хорошо изученным является один из типов пространственных структур - стационарные диссипативные структуры /1-3/. В последнее время в модели физической активной среды важной для микроволновой электроники получены нестационарные пульсирующие автосолитоны /1,6,7/.

В данной работе в модели типа "реакция-диффузия", описывающей биологические и физико-химические системы, получены нестационарные - диссипативные структуры, форма которых не стабильна, а пульсирует во времени /1/. Наличие у этих структур собственного периода колебаний, делает их интересным объектом для изучения резонансных внешних воздействий.

Модель, методика расчета.

В работе использована двухкомпонентная модель типа Фитц-Хью Нангумо, имеющая вид

$$\frac{\partial A}{\partial t} = D_A \frac{\partial^2 A}{\partial x^2} - f(A) - I \tag{1}$$

$$\frac{\partial I}{\partial t} = D_I \frac{\partial^2 I}{\partial x^2} + \epsilon (\psi(A) - I),$$

где $f(A)$ - N-образная функция, ϵ - параметр, причем $\epsilon \ll 1$.

Первое уравнение системы (1) описывает быстрые процессы: возникновение и распространение фронтов импульсов, второе уравнение отвечает за восстановление свойств среды после распространения волны.

Системы вида (1) обычно используются для описания возбудимых мембран (в этом случае A имеет смысл мембранного потенциала, а I - медленного ионного тока), либо для описания химических активных сред



(тогда A и I имеют смысл концентраций активатора и ингибитора соответственно).

При численных расчетах использовалась следующая аппроксимация функций f и φ : $f(A) = \lim_{k \rightarrow \infty} kA (A \leq 0)$; $-g_1(A-a) (0 < A < 1)$; $\lim_{k \rightarrow \infty} k(A-1) (A \geq 1)$; $\varphi(A) = g_2 A$.

Параметры функций f и φ имели следующие значения $g_1 = 1$, $g_2 = a = 0.05$, $D_A = 1$.

Для интегрирования системы (1) была использована явная схема Эйлера. Использовались сетки от 10 до 400 пространственных точек. Значение шага по времени - $HT = 0.025$, по пространству - $HX = 0.5$. На границе задавались граничные условия Неймана.

Результаты.

В случае больших значений коэффициента диффузии ингибитора ($D_I \gg 3.5$) в системе (1) возникают стационарные диссипативные структуры. (Форма пика не меняется с течением времени).

При изменении параметров модели мы обнаружили, что такая стационарность может нарушаться и возникает новый режим - пульсирующая диссипативная структура. На рис.1 показан процесс возникновения такой структуры. Видно, что с течением времени наблюдаются пульсации ширины пика от $X_{\min} = 2.5$ до $X_{\max} = 16.5$. Мы наблюдали за такой структурой вплоть до значений $T = 5000$. Колебания не затухали, и, примерно после 5 колебаний ($T = 300$), устанавливались стационарные значения $X_{\min} = 3$, $X_{\max} = 15$ и периода колебаний структуры $T_R = 57$.

Пульсирующие диссипативные структуры возникают из стационарных при уменьшении коэффициента диффузии ингибитора $D_I < 3.5$. При этом при $D_I > 3.5$ существует переходная область, в которой диссипативные структуры, хотя и являются стационарными, но в процессе установления стационара наблюдаются затухающие колебания формы структуры, причем время затухания с уменьшением D_I увеличивается и при $D_I = 3.5$ срывается в бесконечность. Диапазон существования пульсирующих диссипативных структур в модели (1) при данных значениях параметров $3.2 < D_I < 3.5$. При дальнейшем уменьшении $D_I < 3.2$ опять возникают затухающие колебания, однако, после них устанавливается не стационарная структура, а однородное по пространству состояние $A = 0$, $I = 0$, т.е. структуры исчезают. При дальнейшем уменьшении в системе появляются решения в виде бегущих волн.

Мы исследовали зависимость периода колебаний (T_R) и ширины пика (X_{\min} , X_{\max}) пульсирующих структур от D_I при $3.1 < D_I < 3.6$. Показано, что с ростом D_I максимальный размер пика структуры уменьшается, а минимальный - возрастает, т.е. амплитуда колебаний падает.

При этом период колебаний практически не зависит от коэффициента диффузии ингибитора.

Мы исследовали также зависимость характеристик пульсирующих структур от их пространственного периода. При этом мы считали, что расположенная в центре симметричная структура в случае граничных условий Неймана эквивалентна периодической структуре, причем пространственный период равен длине моделированного участка. Так случай рис. I эквивалентен структуре с пространственным периодом $\lambda = 40$.

Показано, что с уменьшением λ период колебаний падает, уменьшается их амплитуда. Это приводит к тому, что при $\lambda = 15$ пульсации исчезают и устанавливается стационарная диссипативная структура.

Обсуждение. В основе наблюдаемых пульсаций, по-видимому, лежит следующий процесс. При уменьшении размера пика за счет сильной диффузии уменьшается концентрация ингибитора внутри него, что приводит к остановке дальнейшего сжатия пика, а потом и к его расширению. По мере расширения пика внутри него увеличивается наработка ингибитора, который диффундируя замедляет, останавливает, а впоследствии приводит опять к сжатию пика.

Литература

1. Б.С.Кернер, В.В.Осипов. УЖН, 1989, т.157, №2, с.201.
2. Turing A.M. - Phil. Trans. R. Soc. B 237, p.37 (1952).
3. Николис Г., Пригожин И. Самоорганизация в неравновесных системах. М., Мир, 1979.
4. Андреев Е.А., Белый М.У., Куценас В.А., Ливенец Л.С., Пясецкий В.И., Ситько С.П., Скопюк М.И., Талько И.И., Юдин В.А. Физические основы микроволновой (биорезонансной) коррекции физиологического состояния организма человека. В сб. Применение миллиметрового излучения низкой интенсивности в биологии и медицине, М., 1985, с.53.
5. Е.А.Андреев, А.В.Панфилов, Р.Н.Храмов, М.И.Цыганов. В кн. Фундаментальные и прикладные аспекты применения миллиметрового электромагнитного излучения в медицине. Киев, 1989г., с.99.
6. В.В.Гафийчук, Б.С.Кернер, И.И.Лазуркин, В.В.Осипов. Микроэлектроника, т.15 (1986), с.180
7. В.В.Осипов, И.И.Лазурчик, Б.С.Кернер, В.В.Гафийчук. Микроэлектроника, т.16 (1987), с.23.

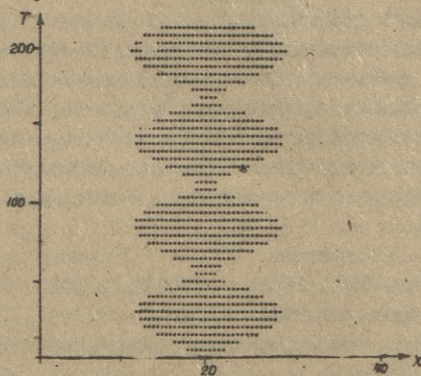


Рис. I. Пульсирующая диссипативная структура. Показано распределение активатора A в пространстве (X) в последовательные моменты времени (T) с шагом $\Delta T = 5$. Темные участки, точки среды, где значение концентрации $A \geq 0.95$. $D_T = 3.3$.

ГУМОРАЛЬНЫЕ ФАКТОРЫ РЕГУЛЯЦИИ КРОВЕТВОРЕНИЯ

В ЭКСТРЕМАЛЬНЫХ УСЛОВИЯХ

Турдыев А.А., Усманов Р.Б., Прус Е.К., Иванов В.И.
Институт зоологии АН УзССР, Ташкент

Среди представителей живой природы известно немало животных, которые обладают поразительной устойчивостью к неблагоприятным воздействиям извне. К ним относятся многие бактерии, некоторые виды растений, различные насекомые, отдельные виды рыб, птиц, грызунов. Среди пресмыкающихся видное место в этом отношении занимает черепаха.

Среднеазиатская черепаха, например, способна выживать в условиях аноксии в течение II часов, в то время как крыса погибает через 4 минуты. На 45-й мин пребывания в атмосфере азота частота сердечных сокращений у черепахи составляет 21,6% от исходной, т.е. снижается в 4,6 раза. В данном случае можно говорить о преобладающей роли глукониза в процессах выработки энергии в организме черепахи при длительной аноксии, поскольку при введении специфического ингибитора глукониза — монооксигенной кислоты у черепах в атмосфере азота деятельность сердца прекращается в течение 13-14 мин (в обычной воздушной среде отмечена 100% выживаемость) /1/.

Выявлена также феноменальная резистентность среднеазиатской черепахи и к деструктивно ионизирующей радиации. Гибель черепах, облученных в осенний период, наступает лишь при дозах 700 и 1000 Гр, причем отмечается 2 пика гибели (30-40 суток и 70-80 суток). Основная масса животных, облученных в зимний период, также погибает в течение 70-80 дней, однако без выраженных пиков. Увеличение дозы облучения лишь несколько приближает сроки наступления гибели.

В весенний период облучение черепах в дозах 700 и 1000 Гр вызывает 100% гибель в течение месяца, а летнее время — к 20-м суткам.

Состояние кроветворной системы среднеазиатской черепахи нельзя считать единственным и определяющим исход лучевого поражения. Гибель животных, как правило, наступает на фоне нормализации некоторых показателей крови (лейкоциты, эритроциты, восстановление веса селезенки). Максимальная гибель черепах наблюдается в период наибольшей активности всех функционально значимых



систем (с апреля по июнь и октябрь). Именно в эти сроки при высоких дозах облучения животные гибнут в течение 20-30 дней пострационального периода.

В декабре черепахи находятся в глубокой спячке. Облученные в этот период животные даже в дозах 1000 Гр в течение первых недель не погибают, основной пик гибели наблюдается на 80-е сутки. Важно отметить, что во всех случаях летальные исходы не коррелируют с гематологическими показателями.

Таким образом, можно предположить, что у среднеазиатских черепах при всех уровнях доз нет четких проявлений "костномозговой" гибели. Гибель после облучения животных в сверхвысоких дозах в течение первого месяца пострационального периода может являться следствием комплексного поражения системы пищеварения на фоне изменения гематологических показателей. Поздняя гибель животных во время глубокой спячки, когда все метаболические процессы резко заторможены, указывает на наличие у черепах этиологических факторов, находящихся вне связи с костно-мозговым или кишечным синдромом. Таким фактором является система энергообеспечения, а именно, дефицит гликогена и липидов в печени (основного источника энергии в период спячки) и, как следствие, животные к моменту пробуждения гибнут от истощения биоэнергетических субстратов.

Высокая радиорезистентность черепах определяется не только особенностями липидного состава и мощной антиокислительной системой мембран /2/, высокими регенераторными потенциалами пораженных облучением клеток микроокружения /3/, но и наличием гуморальных факторов, принимающих активное участие в пострациональном восстановлении пула кроветворных предшественников.

При внутрибрюшинном введении летально облученным (8 Гр) мышам плазмы крови, экстракта печени черепахи создаются благоприятные условия для пострационального восстановления клеточности костного мозга и значительного повышения выживаемости животных /4,5/. Наилучшие условия пострациональной реабилитации отмечены у облученных мышей после введения им экстракта селезенки черепахи или очищенной методом гель-фильтрации фракции У-2 (М.м. 40-80 КДа). Интенсивная эндокolonизация селезенки, восстановление кроветворной ткани в течение 10-14 дней после облучения, восстановление жирнокислотного состава мембран микросом печени, 70-80% выживаемость животных опытной группы (100% гибель в контроле)

06.03.57-40
102 0010333

/6/ - все эти факторы убедительно указывают на благоприятное воздействие гуморальных компонентов селезенки среднеазиатской черепахи при стрессовых ситуациях.

Фракция У-2, выделенная из экстракта селезенки черепахи, обладает так же митогенными свойствами. Эта фракция наряду с ФГА вызывает стимуляцию лимфоцитов периферической крови человека. Получено достаточное для карктицирования количество метафазных пластинок, что указывает на наличие во фракции У-2 компонентов, вызывающих активацию лимфоцитов. Эти данные дают основание для использования фракции У-2 в клинической практике, поскольку фракция по эффективности не уступает ФГА.

Имея столь немаловажные подтверждения высокой терапевтической эффективности экстракта селезенки черепахи, тем не менее, не представляется возможным достаточно четко определить механизм взаимодействия пораженных облучением систем организма с вводимыми препаратами. Можно предположить наличие ряда неспецифических факторов, способствующих в конечном итоге восстановлению пораженных функций. В то же время нельзя исключить и возможность прямой активации клеток-мишеней какими-либо компонентами, входящими в состав экстракта селезенки.

Динамика пострадиационного восстановления гемопоэтической ткани характеризуется следующими особенностями: в течение первых суток нарастание признаков острой лучевой болезни как в опытной, так и в контрольной группах осуществляется практически одинаково, т.е. клетки пролиферативного пула костного мозга облученных мышей не реагируют на введение препарата. Начиная с 8-х суток картина резко меняется: на фоне продолжающейся аплазии в контроле, в костном мозге опытной группы животных появляются многочисленные молодые кроветворные клетки. Митотический индекс втрое превышает интактный уровень. Хромосомные aberrации практически не выявляются, ультраструктура молодых клеток без признаков деструктивных изменений.

Эти данные говорят о том, что восстановление кроветворной функции осуществляется, по-видимому, за счет стволовых клеток-предшественников, индуцированных компонентами экстракта селезенки.

Следует однако отметить, что эти эксперименты не представляют возможности конкретно определить, какие именно предшественники могут быть активированы - кроветворные, стромальные или



обе эти группы. Для этого необходимы другие методические подходы, в частности, методы трансплантации реципиенту донорских клеток костного мозга. Суть эксперимента основана на том, что при трансплантации костного мозга в кроветворных тканях облученного реципиента репопулируют лишь кроветворные клетки-предшественники, в то время как костномозговые клетки-предшественники микроокружения донора в формировании стромы реципиента не участвуют.

При трансплантации облученному реципиенту взвеси клеток костного мозга доноров, облученных и леченных препаратом (экстракт селезенки или фракция У-2) за сутки до получения взвеси, наблюдается почти четырехкратное увеличение экзогенных селезеночных колоний по сравнению с контрольным уровнем. Эти данные указывают на то, что в экстракте селезенки черепахи имеются компоненты (стимуляторы), активирующие костномозговые кроветворные КОЕс.

В изучении роли стромы в репопуляции кроветворения у облученных животных, леченных экстрактом, перспективным оказалось использование функционального подхода, при котором микроокружение рассматривается как кроветворный плацдарм и количественно оценивается по числу кроветворных клеток, пролиферацию и дифференцировку которых может обеспечить данный участок.

Костный мозг можно трансплантировать не только в виде взвеси внутривенно, но и фрагментами. При трансплантации костного мозга фрагментом стромальные предшественники донора строят заново микроокружение, а кроветворные клетки в основном покидают имплантат.

Как показали исследования эктопического очага при трансплантации фрагмента костного мозга здорового донора, фракция У-2 не оказывает стимулирующего действия на дифференцировку стромальных предшественников. В тех же случаях, когда под капсулу почки облученного реципиента имплантируется костный мозг облученного донора, эффективность фракции У-2 значительно возрастает. Масса кости и клеточность предварительно простимулированного фракцией У-2 кроветворного очага увеличивается соответственно в 2 и 5 раз. Учитывая данный эффект можно утверждать вполне определенно, что стромальные клетки-предшественники в стрессовых ситуациях также могут активироваться компонентами экстракта селезенки черепахи.



Следует, таким образом, считать вполне очевидным, что водный экстракт селезенки черепахи обладает широким спектром действия. Наибольший интерес, несомненно, представляет возможность управления активностью недифференцированных бластных клеток костного мозга в экстремальных условиях. Данные аспекты имеют не только практическое значение в плане возможного применения препарата в медицине при лечении острой лучевой болезни, но также не менее важное теоретическое значение. С получением высокоактивных специфических индукторов появляется возможность выделения кроветворных клеток-предшественников, их четкая морфологическая характеристика и последующее выявление механизмов гистогенеза клеток в активно-пролиферирующих тканях.

ЛИТЕРАТУРА

1. Иванов В.И., Турдыев А.А., Аббасова И.А. Роль липидных компонентов микросомальных мембран гепатоцитов среднеазиатской черепахи в реализации лучевых повреждений // Радиобиология.- 1985.-Том 25, вып.2.-С.191-193.
2. Васильев А.Н. Цито-функциональные аспекты радиорезистентности среднеазиатской черепахи.- Автореф.канд.дис. Ташкент, 1981. 23 с.
3. Богданова-Березовская И.Г. Цитоморфологический анализ монослойной культуры клеток крови степной черепахи (*Testudo horsfieldi*).- Автореф.канд.дис. Ташкент, 1978. 14 с.
4. Маждидова Д.Х. Цитологический анализ кроветворной ткани облученных млекопитающих при введении плазмы крови и экстракта селезенки среднеазиатской черепахи.- Автореф.канд.дис. Ташкент, 1982, 16 с.
5. Соколова Т.Н. Морфо-функциональная характеристика печени среднеазиатской черепахи в онтогенезе.- Автореф.канд.дис. Ташкент, 1988, 18 с.
6. Усманов Р.Б. Белковый стимулятор гемопоэза (БСТ) из селезенки среднеазиатской черепахи *Testudo horsfieldi* .- Автореф.канд.дис. Ташкент, 1986. 17 с.

РАСЧЕТНОЕ ИССЛЕДОВАНИЕ ФАКТОРОВ УСТОЙЧИВОСТИ КОМПЛЕКСОВ ПЕПТИДНЫХ БИОРЕГУЛЯТОРОВ СО СПЕЦИФИЧЕСКИМИ РЕЦЕПТОРАМИ

В. М. Дейтин, И. А. Ваксер, С. Г. Галактионов, И. А. Окропиридзе,

Д. А. Ониани

ВНИИ микробиологических производств, Минск; Тбилисский гос-
университет

В последнее десятилетие рядом исследователей развивается концепция, согласно которой взаимодействие многих - возможно, большинства, - пептидных биорегуляторов с их специфическими рецепторами осуществляется главным образом за счет гидрофобных сил (1 - 3). Это обстоятельство может оказаться важным, в частности, для дальнейшего развития методов направленного конструирования пептидных препаратов (4).

Для исследования возможной роли этого типа сил в процессах лиганд-рецепторного взаимодействия могут быть применены процедуры теоретического конформационного анализа пептидных молекул в гетерогенном окружении, развитые нами ранее (5). С их помощью возможно получение оценок энергии переноса молекулы пептида из водного окружения на поверхность раздела фаз "вода-липофильная среда", являющихся в соответствии с упомянутыми представлениями мерой их средства к гидрофобной поверхности рецептора.

Нами произведено сопоставление таких оценок (8), полученных для ряда биологически активных пептидов с данными об их биологической активности. В качестве их характеристик последней использовались величины PD_2 или логарифмы относительной активности аналогов (в долях активности материнского соединения) α ; обе величины примерно пропорциональны энергии связывания со специфическим рецептором. Соответствующие данные брались из (6 - 9).

Первую группу аналогов образовали короткие, до тетрапептидов включительно, фрагменты природных пептидных биорегуляторов: данные об их средстве к соответствующим рецепторам систематизированы в (6). Зависимость между величинами PD_2 и

оценками энергий переноса δ оказалась весьма сильно выраженной. Она представлена на рис. 1.

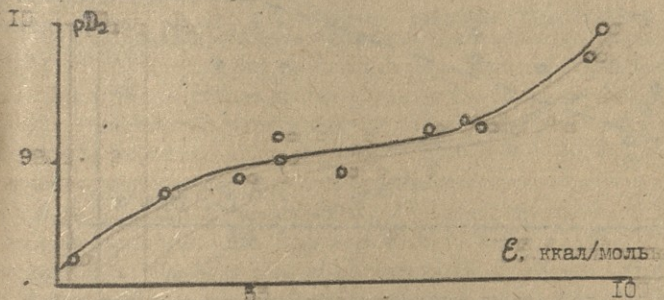


Рис. 1. Сопоставление значений ρD_2 фрагментов некоторых биологически активных пептидов с оценками δ энергий их переноса из водного окружения на поверхность раздела фаз "вода - липофильная среда".

Далее были рассмотрены группы аналогов ангиотензина и брадикинина, полученных единичными аминокислотными заменами, приводящими к изменению амфифильных свойств соединения. В этих случаях, в отличие от немодифицированных фрагментов молекул природных биорегуляторов, оказываются существенными не только различия в средстве к липофильной фазе, но и нарушения стерической комплементарности рецептору, вносимые заменами аминокислотных остатков.

Действительно, в группах однозамещенных аналогов ооии пептидов корреляция между расчетными оценками δ и характеристиками средства к рецептору, полученными на основании результатов биологических испытаний, оказалась весьма слабовыраженной (рис. 2, 3). Величины δ , использованные здесь, относятся к так называемым "биологически активным" конформациям пептидов, принимаемым их молекулами в составе комплекса с рецептором. Соответствующие данные для ангиотензина и брадикинина (рецепторы типа B_1) позаимствованы нами из [10]. Здесь следует отметить, что таким конформациям соответствовали низкие значения энергии на поверхности раздела фаз.

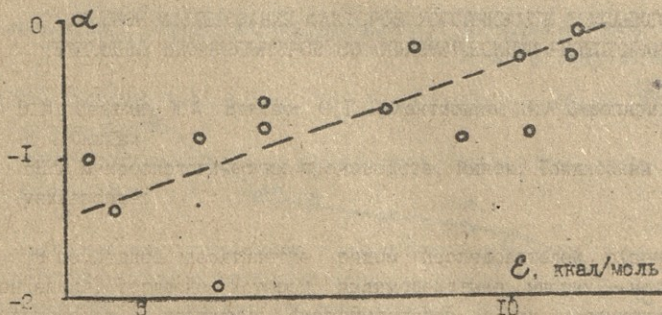


Рис. 2. Сопоставление логарифмов относительных активностей и однозамещенных аналогов ангиотензина с оценками энергий переноса δ .

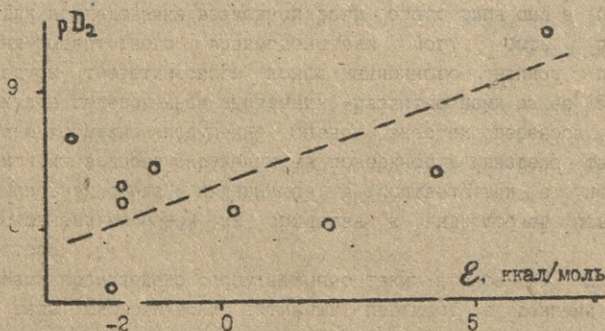


Рис. 3. Сопоставление величин pD_2 однозамещенных аналогов брадикинина (рецептор B_1) с оценками энергий переноса δ .

В обеих группах рассматривались лишь аналоги, конформационные возможности остова которых не были ограничены по сравнению с материнским соединением, так что изменение сродства к рецептору с высокой степенью правдоподобия можно объяснить изменением свойств бокового радикала модифицированного остатка. Помимо характеристики гидрофобности, важнейшим с этой точки зрения свойством является объем.

Однако корреляция изменений объема с величинами сродства к рецептору в группе аналогов ангиотензина оказалась выраженной весьма слабо (рис. 4), а в группе аналогов брадикинина вообще отсутствовала.

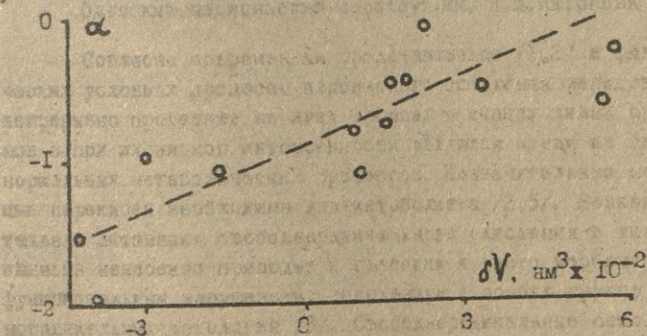


Рис. 4. Оставлен α — логарифмов относительных активностей α аналогов ангиотензина с величинами δV разницы объемов молекул материнского соединения и аналога.

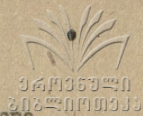
По-видимому, изменение объема остатка в результате модификации является лишь грубой мерой наступивших нарушений пространственной комплементарности молекулы пептида и связывающего сайта его специфического рецептора.

Возможности развиваемого расчетного подхода к исследованию условий формирования комплекса биорегулятора с рецептором не ограничиваются, впрочем, получением лишь энергетических оценок; наличие сведений об ориентации молекулы лиганда относительно рецептора открывает интересные перспективы "картирования" его поверхности. Связанные с этим проблемы предполагается сделать предметом отдельной публикации.

ЛИТЕРАТУРА

1. Kais. E. T., Kezdy F. J. Science, 223, 249 - 255, 1984
2. Lau S. H., Rivier J., Vale W., Kaiser E. T., Kezdy F. J., Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 80, 7070 - 7074, 1983
3. Schwyzler P., Grellich H.-U., Gysin B., Sargent D. F., Fringelli

- U.P. in Peptides: Structure and Function, 657 - 664, 1983
4. Galaktionov S.G., Tseytin V.M., Vakser I.A., in Proc. 5th FECS Conf. on Chem. and Biotechnol., Biol. Active Nat. Prod., Varna, 1, 302 - 307, 1989
5. Галактионов С.Г., Цейтин В.М., Ваксер И.А., Прохорчик Е.В., Биофизика, 33, 558 - 556, 1988
6. Структура и функции низкомолекулярных пептидов, Рига, Зинатне, 1980
7. Галактионов С.Г., Никифорович Г.В., Шендерович М.Д., Чипенс Г.И., Ангиотензин, Рига, Зинатне, 1979
8. Regoin D., Barabe J., Pharm. Rev., 32, 1 - 46, 1980
9. Regoin D., Park W.K., Rioux F., Pharm. Rev., 26, 69 - 123, 1974
10. Никифорович Г.В., Галактионов С.Г., Чипенс Г.И., Конформации пептидных биорегуляторов, М., Медицина, 1983



ПЕРЕКИСНОЕ ОКИСЛЕНИЕ ЛИПИДОВ ГОЛОВНОГО МОЗГА КРЫС ПРИ ОЖОГОВОЙ ТРАВМЕ

Б.А. Цудзевич, В.К. Напханк

Киевский государственный университет им. Т.Г. Шевченко,
Одесский медицинский институт им. Н.И. Пирогова

Согласно современным представлениям /1,2/ в физиологических условиях процессы перекисного окисления липидов (ПОЛ) постоянно протекать во всех органах и тканях живых организмов и при их низкой интенсивности являются одним из типов нормальных метаболических процессов. Незначительные концентрации перекисей необходимы для метаболизма /2,5/. Резкая и длительная активация свободнорадикального окисления в тканях организма неизбежно приводит к глубоким и часто необратимым функциональным нарушениям, выделенным в особую группу свободнорадикальных патологий /3/. Свободнорадикальные патологии могут выступать как самостоятельные /4/ или сопутствующие, вызываемые другими заболеваниями или воздействиями /5/. К таким воздействиям относят химические и физические факторы внешней среды, длительные интоксикации, болевые синдромы, эмоциональный стресс и др. /6,7/. Изучение сопутствующих свободнорадикальных патологий в настоящее время представляет существенный теоретический и практический интерес, позволяющий дать более полную оценку патогенеза основного заболевания и на этой основе разработать целенаправленные методы коррекции метаболизма. Исходя из вышесказанного, целью нашей работы явилось исследование влияния обширного ожога на перекисное окисление липидов в различных отделах головного мозга крыс.

Исследования проводились на половозрелых крысах-самцах линии Вистар массой 180-200 г, которые были разделены на следующие группы: 1) интактные животные; 2) животные после термического ожога III-IV степени площадью 30% поверхности тела. Ожог наносили при помощи ртутно-кварцевых ламп, смонтированных в специально сконструированной камере. Забой животных осуществляли путем быстрой декапитации в холодной комнате при температуре 0 - +4°C через 60 минут, 3 и 24 часа после нанесения ожога. Быстро на холоду извлекали головной мозг, освобождая его от мозговых оболочек и кровеносных сосудов, промыва-

ли в охлажденном 0,15 М растворе KCl, после чего состригали кору, отделяли стволовую часть и мозжечок. Гомогенизирование измельченных тканей проводили в 0,15 М растворе KCl, содержащем 3,3 мМ KHCO_3 pH 7,4. Методом дифференциального центрифугирования выделяли митохондрии и цитоплазматическую фракцию /8/, в которых определяли содержание малонового диальдегида и диеновых конъюгатов /9/. Концентрации выражали в нмоль, образующегося продукта реакции на 1 г ткани.

В результате проведенных исследований установлено, что отделы головного мозга интактных крыс характеризуются различным содержанием продуктов ПОЛ. Наиболее высокая концентрация малонового диальдегида и диеновых конъюгатов отмечена в стволовой части, несколько меньше их в мозжечке и самое малое количество в коре. Характерным является и то, что в митохондриальной фракции всех отделов головного мозга продуктов ПОЛ больше, чем в цитоплазме. Зполне вероятно, что такое перераспределение содержания малонового диальдегида и диеновых конъюгатов объясняется особенностями метаболизма в каждом отделе мозга, состоянием и мощностью систем антирадикальной защиты. Подтверждением этого предположения являются результаты исследования /10/ интенсивности антиоксидантной системы различных отделов головного мозга, в которых установлено, что кора головного мозга обеспечена такими ферментами в меньшей степени, чем другие отделы и очень чувствительна к токсическому воздействию повышенных концентраций продуктов ПОЛ.

Термический ожог III-B степени 30% поверхности тела приводит к значительному изменению скорости образования малонового диальдегида и диеновых конъюгатов в отделах головного мозга во все сроки исследования. Глубина и направленность наблюдаемых нарушений во многом зависит от времени после нанесения поражения, отдела мозга и клеточных компариментов. Как следует из проведенных исследований через 60 минут после ожога интенсивность накопления малонового диальдегида наиболее высокая в митохондриях и цитоплазме коры головного мозга. В стволовой части и мозжечке также наблюдается сильное увеличение содержания продуктов ПОЛ, но в меньшей степени, чем в коре. Обращает на себя внимание и то, что эти изменения больше выражены в митохондриях всех отделов, чем в цитоплазме. В дальнейшем (3 часа) наблюдается тенденция к некоторому сниже-

06.03.57-40
382301033

них концентрации малонового диальдегида, как в митохондриях, так и цитоплазме всех отделов головного мозга. Однако, оно не достигает уровня контрольных величин. При этом следует подчеркнуть, что по степени эти изменения не однообразны и имеют некоторые характерные особенности. По сравнению с предыдущим сроком исследования количество малонового диальдегида снижается в коре на 30%, стволовой части на 20% и мозжечке на 15%. К исходу первых суток накопление малонового диальдегида вновь нарастает. Наиболее интенсивно этот процесс протекает в коре и стволовой части. В мозжечке изменения носят незначительный характер. Изложенные факты позволяют предположить, что мозжечок, очевидно, обладает самой мощной системой антирадикальной защиты во всех ее звеньях.

В отличие от вышеизложенного, обширная ожоговая травма вызывает разнонаправленные изменения содержания диеновых конъюгатов, которые находятся в прямой зависимости от времени после нанесения повреждения. В течение первого часа количество их снижается в митохондриях и цитоплазме всех отделов. В последующем (3 часа) концентрация диеновых конъюгатов резко увеличивается. Особенно интенсивно этот процесс протекает в митохондриях коры. По состоянию на 24 часа скорость накопления диеновых конъюгатов несколько снижается, однако остается выше контрольных показателей.

Анализ проведенных исследований свидетельствует о том, что ожоговая травма вызывает интенсификацию образования перекисных соединений в головном мозге крыс, чрезмерное накопление которых, очевидно, играет значительную роль в патогенезе ожоговой болезни. Характерной особенностью является то, что в первые часы после травмы наряду с усилением образования малонового диальдегида уменьшается количество диеновых конъюгатов. Это обстоятельство, по-видимому, связано с несколькими причинами. Во-первых, с наличием лаг-периода, предшествующего образованию перекисных соединений на начальных этапах действия сильного физического фактора. Подтверждением такого предположения является исследование /11,12/ процессов ПОД при действии ионизирующих излучений на организм. Во-вторых, очевидно, что в первые часы при обширной ожоговой травме, когда на первое место в роли инициатора ПОД выступает только стрессовая реакция и травматический шок /7/, специализированные



противоперекисные системы в какой-то степени стабилизируют этот процесс. В дальнейшем, когда к предыдущим факторам присоединяется явление общей интоксикации продуктами распада обожженных тканей, наблюдается новая интенсификация реакции ПОЛ. В этот период, по-видимому, происходит истощение и подавление активности ферментов противополоперекисной системы. Не менее интересным является и то, что в коре, где в физиологических условиях содержится наименьшее количество малонового диальдегида и диеновых конъюгатов, отмечаются наиболее глубокие и стойкие нарушения. Это явление можно объяснить низкой активностью и малой мощностью систем противополоперекисной защиты коры.

Вышеизложенное позволяет сделать заключение о том, что ожоговая травма вызывает усиление адаптивных биохимических реакций, результатом побочного действия которых является увеличение количества первичных свободных радикалов. Последние, как известно /13/, инициируют образование перекисных соединений, которые в силу своей высокой электрофильности способны вызывать окислительную модификацию различных биосубстратов, оказывая повреждающее действие на клетку. Вероятно, что в ответ на такое воздействие на первых этапах происходит неадекватное напряжение всех звеньев и компонентов антиоксидантной системы с последующим истощением цепи антирадикальной защиты, сопровождающееся дефицитом водо- и жирорастворимых антиоксидантов, сдвигом в сторону окисленных форм пиридиновых нуклеотидов и тиолов /13/. Перечисленные процессы способствуют снижению буферной емкости и мощности антиоксидантной системы с постепенной инактивацией антиоксидантных ферментов и развитием несостоятельности антиоксидантного статуса организма вследствие чего происходит многократное усиление реакций ПОЛ с модификационными изменениями белков, нуклеиновых кислот и других биологически важных соединений. Результаты экспериментальных исследований являются убедительным доказательством положений /12/ о том, что сбалансированное соотношение между уровнем ПОЛ и адекватностью защитных ресурсов организма - биогенных аминов, тиолов, эндогенных антиоксидантов и антирадикальных механизмов относится к одной из пусковых, критических систем, нарушение функции которой приводит к развитию тяжелых патологических состояний с поражением многочисленных

регуляторных и репарирующих механизмов.

ЛИТЕРАТУРА

1. Куравлев А.И. Развитие идеи Б.Н.Тарусова о роли цепных процессов в биологии // Биоантиокислители в регуляции метаболизма в норме и патологии. - М.: Наука, 1982. - С. 3 - 36.
2. Куравлев А.И. Биоантиокислители и их роль в регуляции окислительных процессов // Физико-химические основы авторегуляции в клетках. - М.: Наука, 1968. - С. 7 - 14.
3. Биофизика рака / Эмануэль Н.М. и др. - Киев.: Наукова думка, 1976. - 296 с.
4. Иванов И.И., Мерзляк М.Н., Тарусов Б.Н. Витамин Е, биологическая роль в связи с антиоксидантными свойствами // Биоантиокислители. - М.: Наука, 1975. - С. 30 - 52.
5. Ланкин В.З. Ферментативное перекисное окисление липидов // Укр. биохим. журн. - 1984. - 56, №3. - С. 317 - 331.
6. Рыскудова С.Т. Радиационная биология плазматических мембран. - М.: Энергоатомиздат, 1986. - 128 с.
7. Атаджанова З.Р., Борисов С.Е., Удовиченко В.И. Перекисное окисление липидов при ожоговом шоке у крыс адаптированных к высотной гипоксии // Пат. физиол. и эксперим. терапия. - 1986. - №3. - С. 42 - 44.
8. Методы биохимических исследований / Под редакцией М.И. Прохоровой. - Л.: Изд-во Лeningradskogo univ., 1982. - 272 с.
9. Современные методы в биохимии / Под ред. В.Н. Ореховича. - М.: Медицина, 1977. - 392 с.
10. Ферментативные механизмы торможения перекисного окисления в различных отделах головного мозга крыс / А.М. Герасимов, Л.А. Королева, О.С. Бруссов и др. // Вопр. мед. химии. - 1976. - 22, №1. - С. 89 - 94.
11. Напханьяк В.К. Активность ферментов глутатионовой противоперекисной системы головного мозга крыс при тотальном гамма-облучении в абсолютно-летальной дозе // Механизмы действия ионизирующего излучения на структуру и функции белков. - Пушкино, 1986. - С. 59 - 60.
12. Лучевое поражение / Под. ред. К.Б. Кудряшова. - Изд-во МГУ, 1987. - 230 с.
13. Владимиров К.А., Арчаков А.И. Перекисное окисление липидов в биологических мембранах. - М.: Наука, 1972. - 257 с.

Effects of ^{60}Co r-Rays on Cyclic Nuclentide and
DNA Levels of Lymphocytes

Yu Zhi-Jie Wang Zong-Wu Han Lin Chen Tie-ne
Pan Yu-Sha Su Fu-qiang

(Naval Medical Research Institute, Shanghai)

Abstract

This paper reports the effects of ^{60}Co r-rays on lymphocytes. 64 male rabbits were used in the experiments. Dose-rates were 0.265 Gy/min for single whole-body exposure and 0.0025 Gy/min for fractionated whole-body exposures. The animals were exposed to 0.5, 1, 2 and 3 Gy respectively in both modes. cAMP, cGMP and DNA in peripheral blood lymphocytes and DNA synthesis-rate in T-lymphocytes were measured at 2hr, 1, 3, 7, 14, 21, and 29 days after irradiation. The effects of exogenous cAMP on the animals exposed to fractionated irradiation were observed.

The experimental results showed that there was no change in cDNA but cAMP and cGMP amounts were obviously increased ($P < 0.05$) on the first day and returned to normal on 3rd day with 50- and 100- rad single exposure, however, cDNA were decreased, cAMP, cGMP were increased at 2hr and tended to recover on 7th day after irradiation with 200 and 300 rad exposure. The results also showed that in the fractionated irradiation, all the indications did not change except cDNA decrease in irradiation 50 and 100 rad on the 7th day, but cAMP rose and cGMP dropped on the first day with 200 and 300 rads and recovered on the 7th day. The recovery of cyclic nucleotides was forwarded in the animals given exogenous cAMP.

The research for effects of ^{60}Co r-rays on various components of lymphocytes, particularly cyclic nucleotides was scant and contradictory results have been reported. Our experiments suggested that the changes in cyclic nucleotides of lymphocytes by ^{60}Co r-rays depended not only on irradiation dose but also on irradiation modes and time of observation. Our results also indicated there were certain relationship between changes of cyclic nucleotides and cDNA, the former appears earlier than the latter. The authors considers that the amounts of cyclic nucleotides of lymphocytes can be used as a sensitive indicator for the study of radiation effects.



EFFECTS OF LOW DOSE ⁶⁰Co r-RAYS EXTERNAL
IRRADIATION ON THE LYMPHOCYTE UDS IN
RABBIT PERIPHERAL BLOOD

JIA FUXING; SHEN XIANRONG; HAN GUOXIN; YUN CHANGQUAN

(THE NAVAL MEDICAL RESEARCH INSTITUTE, SHANGHAI, CHINA)

ABSTRACT

The rabbits were exposed to low dose ⁶⁰Co r-rays external irradiation (dose rate, 49.4mGy/h, exposed 1 hour a day, cumulative dose up to 497.0 mGy). Levels of lymphocyte UDS of the irradiated group exceeded significantly ($p < 0.05$) the non-irradiated control and were elevated linearly with the increasing doses. A positive, statistically significant correlation was obtained between levels of UDS and cumulative dose. It proposed that lymphocyte UDS had certain feasibility as a new biological dosimetry. After termination irradiation, levels of lymphocyte UDS of the irradiated rabbits started rising at 1 hour, attained a peak value at 48 hour and returned to the levels of control at the 17th day. The results indicated that UDS measured at a long time interval after termination irradiation was inadvisable. In addition, the method of determination UDS, which based on whole blood culture, was simple, fast, and sensitive. Thus, the method was feasible for the investigation of the biological effects of low level ionizing radiation.

KEY WORDS: low level ionizing radiation; unscheduled DNA-synthesis (UDS); biological dosimetry

ANTI-RADIATION EFFECTS OF CHNOOSPORA IMPLXA

Yu Zhijie Cui Zhengde Zeng Rongkun Mao Wenxian
Lu Xinchun Fan Zhengping
Naval Medical Research Institute, Shanghai, China

Chnoospora implxa is a brown alga. it comes from south China sea. The pharmaceutical effects of *chnoospora implxa* haven't reported. Our experiment found that it was of certain antiradiation effects, including the prevention and treatment of radiation damages. We are also of interest to remarkably increase white blood cell counts in peripheral blood and protect hematopoietic tissues.

The experiments made use of 277 mice. The animals were irradiated with r-rays to doses 750 rads, and given drug at 20 mg/0.2 ml ip. before irradiation 20 min or after irradiation 30 min and 48 h. The results shown that survival rate was 35% (control 20%) or 22% (control 9%). The experimental results also shown that WBC in 70% animals was evidently increased after giving drug for 8-11 h, and that spleen index and DNA synthesis of bone-marrow were enhanced.

Chnoospora implxa had certain antiradiation effects (survival 3/11, control 1/9) and to promote recovery of white blood cells in irradiated dogs.

The toxicity test indicated it was not of abnormal effects on mice and dogs.

Chnoospora implxa consist of sugar, organic acid, metallic element and so on.



DETERMINATION ON DAMAGE AND REPAIR OF r-RAY EXPOSURE
BY SYSTEM OF PARVO VIRUS-HUMAN CELLS

Yu zhijie Zhu Bingchai Zhu Lei Chen Tiede
Han Ling

Naval Medical Research Institute, Shanghai, China

The analytic method of the cells damage and repair by virus was developed for eighty years.

H-1 is a parvovirus. it consists of single strand DNA. DNA replication of virus is almost dependent on DNA metabolic function of cells. The effects on survival rate and mutation of virus by r-ray irradiation indicated induced-damage and repair function of DNA in cells. Our experimental results showed that the method was useful for testing radiation induced-damage and repair of cells in mammalian. this so called virus probe.

My experiment determined induced-damage, repair and mutation of 60 cobalt r-ray irradiation with 0.05, 0.1, 0.2, 0.5 and 1 Gy respectively by H-1 NBE system. We found that the presence of DNA damage and repair and possibility of mutation with irradiation in excess of 0.1 Gy, but the effects of damage and mutation was not signal with dose as low as 0.05 Gy. The experiment also showed that growth of NBE irradiated with as low as 0.5 Gy was better ability than unirradiation.

The significance of this results suggested that the biological effects of low radiation was double. It was not only to induce damage and repair, but also likely to show a error-prone recovery activity resemble "SOS" reponse in E.coli and result in chromosomal aberration. However it also resulted from a possibility of enhanced resistance with low doses irradiation of certain range.

This results were of worthy of further researches.



Содержание

| | |
|---|----|
| 1. Андреев В.А., Панфилов А.В., Храмов Р.Н., Дальное действие и резонансные эффекты в системе пульсирующих диссипативных структур /Пушино, Киев/ | 3 |
| 2. Ахалая М.Я., Деев Л.И., О влиянии лимедрола на некоторые характеристики цитохром Р-450-зависимой системы микросомального окисления печени крыс /Москва/ | 7 |
| 3. Барабой В.А., Клеточный стресс, стрессовые белки и устойчивость живых систем /Киев/ | 14 |
| 4. Барабой В.А., Опухоль как устойчивая биологическая система /Киев/ | 22 |
| 5. Береговская Н.Н., Молекулярно-генетические механизмы обеспечения надежности энергопреобразующих систем и канцерогенез /Киев/ | 31 |
| 6. Вепхадзе Р.Я., Найнова О.К., Электромагнитное поле-модификатор р при радиотерапии опухолей/Тбилиси/ | 43 |
| 7. Гедеванитшвили Э.Г., Капанадзе А.Е. Применение термографии в оценке реакции организма на локальное облучение ионизирующей радиацией /Тбилиси/ | 50 |
| 8. Гжонка З., Цистатины: ингибиторы цистеиновых протеиназ /Гданьск, Польша/ | 54 |
| 9. Гончарова Н.В., Гапоненко В.И., Устойчивость АТФ-синтезирующих систем хлоропластов к действию ионизирующих излучений /Минск/ | 60 |
| 10. Гуджабидзе А.О., Коморидзе М.И., Дуцивава Н.А., Царцидзе М.А. Исследование биодеградации полимерных материалов методом ИК-спектроскопии /Тбилиси/ | 66 |
| 11. Гудков И.И., Гродзинский Е.М., Роль систем надежности в формировании радиустойчивости организма /Киев/ | 76 |
| 12. Дабасс Р.Х., Ломсадзе Т.Т., Тушурашвили П.Р., Ломсадзе Б.А., Роль ионов Mn в ферментативном расщеплении целлюлозы грибом <i>Aspergillus niger</i> /Тбилиси/ | 83 |
| 13. Двогнецкий А.И., Егорова Е.Г., Действие радиопрофилактических препаратов на активность Mg, Ca -аТФазы /Днепропетровск/ | 88 |
| 14. Иванов В.А., Турдиев А.А., Биохимические механизмы устойчивости среднеазиатской черепахи к экстремальным воздействиям /Ташкент/ | 92 |


 24135340
 24135340

15. Исуев А.Р., Антиокислительные ферменты в эмбриогенезе рыб /Тбилиси/ 100
16. Исуев А.Р., Котелевцев С.Н., Пономарева Л.Н., Цитохром P-450 содержащая монооксигеназная система микросом в протоплазме раннего онтогенеза рыб /Тбилиси/ 103
17. Катина И.Е., Лонский А.В., Рошина Н.Г., Толстикова В.Е., Бутов С.Н., Изменение калиевой проводимости мембран клеток Jurkat на разных стадиях роста культуры /Ленинград/ 106
18. Котария Р.З., Давитая Р.Ш., Талаквадзе Н.В., Ломсадзе Е.А., Исследование влияния рентгеновского излучения на связывание простогландинов и на перекисное окисление липидов в микросомах опухолевых клеток /Тбилиси/ 110
19. Котария Р.З., Давитая Р.Ш., Талаквадзе Н.В., Ломсадзе Е.А., Антелава М.В., Исследование фосфолипидного состава микросомальных мембран клеток асцитной карциномы Эрлиха /Тбилиси/ 114
20. Кручинский Н.Г., Изменение некоторых гемометрических показателей у больных гнойно-септическими заболеваниями при проведении курса сорбционной детоксикации /Минск/ 117
21. Мазур Л.И., Кирковский В.В., Гапанович В.В., Кушниренко В.С., Дობачева Г.А., Матус В.В., Возможности коррекции белкового метаболизма при лучевых поражениях в эксперименте /Минск/ 125
22. Мачарашвили Д.А., Вирусов О.Т., Взаимоотношения нарушения обмена витамина С и ультраструктурных изменений в сердце гипоксированных белых крыс /Тбилиси/ . . . 132
23. Медвинский А.Г., Фишов И.Л., Цыганов М.А., Выживание расширяющихся колоний подвижных бактерий при точечной вирусной инфекции /Пушино/ 136
24. Нахаланик В.К., Цудзевич Е.А., Перекисное окисление липидов и глутатионовая противоперекисная система скелетных мышц крыс при максимальной физической нагрузке /Одесса, Киев/ 138
25. Николаичик В.В., Егичко Г.Н., Устойчивость клеток крови к повреждающему действию пептичных продуктов протеолиза /Минск/ 142



26. Ониани Д.А., Молекулярно-мембранные механизмы действия биогенных аминов на циклолиз растительной клетки /Тбилиси/ 148

27. Ониани Д.А., Кудряшов А.П., Гущина Л.Н., Кудряшова Н.Н., Беселля М.Г., Изучение степени загрязнения водной среды способом электроплазмографического тестирования /Тбилиси, Минск/ 157

28. Ониани Д.А., Кудряшов А.П., Гущина Л.Н., Кудряшова Н.Н., Беселля М.Г., Сравнительный анализ методов оценки качества вод: гидрохимический и электроальгологический /Тбилиси, Минск/ 160

29. Спритов А.А., Крауз В.О., Худяков В.А., Пятигин С.С., О роли H^+ -АТФ-азы плазматических мембран в устойчивости клеток растений к низким положительным температурам /Торький/ 163

30. Панфилов А.В., Храмов Р.Н., Пульсирующие диссипативные структуры в системе "реакция-диффузия" /Пушино, Киев/ 169

31. Турдыев А.А., Усманов Р.Б., Прус Е.К., Иванов В.И., Гуморальные факторы регуляции кроветворения в экстремальных условиях /Ташкент/ 173

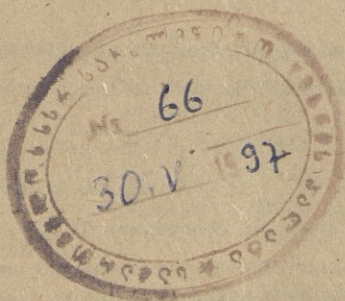
32. Цейтин В.М., Ваксар И.А., Галактионов С.Г., Окропиридзе И.А., Ониани Д.А., Расчетное исследование факторов устойчивости комплексов пептидных биорегуляторов со специфическими рецепторами /Минск, Тбилиси/ 178

33. Цудзевич Б.А., Напханюк В.К., Перекисное окисление липидов головного мозга крыс при ожоговой травме /Киев, Одесса/ 183

34. Yu Zhi-Jie Wang Zong-wu Han Lin Chen Tie-he Pan Yu-Sha Su Fu-qiang, Effects of 60 Co γ -Rays on Cyclic Nuclentide and DNA Levels of Lymphocytes /Shanghai, China/ 188



35. JIA Fuxing; Shen Xianrong; Han Guoxin; Yun Changquan; effects of low dose ^{60}Co r-RAYS external irradiation on the lymphocyte ups in rebbit peripheral blood (China)189.
36. Yu Zhijie; Cui Zhengde; Zeng Rongkun; Mad Wenxian; Lu Xinshu
Fan Zhengping; Antiradiation effects of chnoospora IMPLXA..190.
37. Yu Zhijie; Zhu Bingchai; Zhu Lei; Chen Tiehe; Han Lins; Determination on damage and repair of r-RAY exposure by system of parvo virus - human cells191.



Редактор издательства С.Григорян

Усл.печ.л. II Уч.-изд.л. 7,06

Тираж 100 Заказ 43

Цена договорная

Издательство Тбилисского университета,
Тбилиси 380028, пр.И.Чавчавадзе, 14.
თბილისის უნივერსიტეტის გამომცემლობა,
თბილისი, 380028, ი.ჭავჭავაძის პროსპექტი, 14.

ვამომცემლობა „მერიდიანი“, „კავბათნი“
თბილისი, გურამიშვილის ვაზა., 74

97-6/8

06035020
2022010333