

784-3  
1980



ISSN—0321—1665

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

BIOLOGICAL SERIES

ბიოლოგიის  
სერია  
СЕРИЯ  
БИОЛОГИЧЕСКАЯ

1980 N 3 • თბილისი • შობი  
T B I L I S I • T O M  
V O L.

6

СПИСОК РАЗДЕЛОВ БИОЛОГИИ,  
ПО КОТОРЫМ ПРИНИМАЮТСЯ СТАТЬИ

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

საქართველოს სსრ მეცნიერებათა აკადემიის მაცნე  
ИЗВЕСТИЯ АКАДЕМИИ НАУК ГРУЗИНСКОЙ ССР



# ბიოლოგიის სერია СЕРИЯ БИОЛОГИЧЕСКАЯ

ტომი 6, № 3  
Том

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

გამომცემლობა „მეცნიერება“  
ИЗДАТЕЛЬСТВО „МЕЦНИЕРЕБА“

თბილისი 1980  
ТБИЛИСИ

სარედაქციო კოლეგია:

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

ლ. გაბუნია, ს. ღურმუშიძე, მ. ზაალიშვილი, გ. თუმანიშვილი, ი. თუმაჯანოვი,  
გ. კანდელაკი, ნ. კეცხოველი, კ. ნადარეიშვილი, პ. ქომეთიანი, ბ. ყურაშვილი,  
ნ. ძამიშვილი, თ. ტანიშვილი, შ. ტანიშვილი, ნ. ჯავახიშვილი  
პასუხისმგებელი მდივანი ს. ლაბაძე

РЕДАКЦИОННАЯ КОЛЛЕГИЯ:

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

Л. К. Габуния, Н. А. Джавахишвили, Н. Н. Дзидзишвили, С. В. Дурмишидзе,  
М. М. Заалишвили, Г. В. Канделаки, Н. Н. Кецохели, П. А. Кометнани,  
Б. Е. Курашвили, К. Ш. Надарейшвили, И. И. Тумаджанов, Г. Д. Туманишвили,  
Т. Г. Чанишвили, Ш. Ф. Чанишвили  
Ответственный секретарь С. Р. Лабадзе

EDITORIAL BOARD:

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

Sh. F. Chanishvili, T. G. Chantshvili, N. A. Djavakhishvili, S. V. Durmishidze,  
N. N. Dzidzishvili, L. K. Gabunia, G. V. Kandelaki, N. N. Ketskhelveli,  
P. A. Kometiani, B. E. Kurashvili, K. Sh. Nadareishvili, I. I. Tumanjanov,  
G. D. Tumanishvili M. M. Zaalishvili  
Executive Secretary S. R. Labadze



СОДЕРЖАНИЕ — შიგნითი — CONTENTS

V. M. Kenia. Выработка взаимозависимого поведения голубей в условиях перекрестного подкрепления	197
ვ. ყენია. შტრედებში ურთიერთდამოკიდებული ქცევის გამომუშავება უპირობო გამლიზინებლებთან ჭვარედინად შეუღლების პირობებში	
V. M. Kenia. Elaboration of interdependent behaviour in pigeons during crossed reinforcement of unconditioned stimuli	
O. A. Чантурая, Т. С. Хуцишвили. Новая экспериментальная модель ишемии миокарда	205
ო. ჭანტურაია, ტ. ხუციშვილი. მიოკარდის იშემიის ახალი ექსპერიმენტული მოდელი	
O. Chanturaia, T. Khutsishvili. A new experimental model of myocardial ischemia	
<b>M. P. Kupaeradze</b> , Н. А. Костенко. К вопросу о распределении олигодендронитов в ассоциативной и интегративной коре супрасильвиевской извилины кошки (количественные данные)	211
<b>მ. ყუფარაძე</b> , ნ. აოსტენკო. კატის სუბრასილიტორი ზვეულის ასოციაციურ და ინტეგრაციულ ქერქში ოლიგოდენდროციტების განაწილების საკითხისათვის (რაოდენობრივი მონაცემები)	
<b>M. R. Kupaeradze</b> , N. A. Kostenko. On the distribution of oligodendrocytes in the association and integrative cortex of suprasylvian gyrus of the cat (quantitative data)	
Г. И. Бахтадзе. Действие актиномицина D на морфологию и транскрипцию клеток семенных фолликулов <i>Schistocerca gregaria</i>	217
გ. ბახტაძე. აქტინომიცინ D-ს მოქმედება <i>Schistocerca gregaria</i> -ის სათესლე ფოლიკულების უჯრედების მორფოლოგიისა და ტრანსკრიფციაზე	
G. I. Bakhadze. Action of actinomycin D on the transcription and morphology of <i>Schistocerca gregaria</i> testicular follicle cells	
Т. Я. Фрайкина, Д. Г. Микеладзе. Об эффектах аналогов циклического аденозинмонофосфата на ферменты, связанные с его обменом в нервной клетке	223
ტ. ფრაიკინა, დ. მიქელაძე. ნერვულ უჯრედში ციკლური ადენოზინმონოფოსფატის ანალოგების გავლენა ფერმენტებზე, რომლებიც მონაწილეობას იღებენ მის ცვლაში	
T. Ya. Fraikina, D. G. Mikeladze. The effects of the cyclic AMP analogues on the enzymes, involved in its metabolism in the nervous cells	
Б. Г. Зуребиани. Флора ущелья Мestia-чала в Верхней Сванетии	231
ბ. ზურებიანი. მესტია-ჰალის ხეობის ფლორა	
B. G. Zurebiani. The flora of Mestia-chala gorge	
Ш. Г. Сичинава. Эффективность гамбузии в борьбе с преимагинальными фазами кровососущих комаров ( <i>Diptera, Culicidae</i> ) в Грузии	237
შ. სიკინავა. გამბუზის ეფექტურობა სისხლმწოვი კოლოების ( <i>Diptera, Culicidae</i> ) იმადოსინა ფაზებთან საბრძოლველად საქართველოში	
Sh. G. Sichinava. Effectiveness of gambusia against preimaginal phases of blood-sucking mosquitoes ( <i>Diptera, Culicidae</i> )	
Л. И. Сахвадзе, М. И. Имнадзе, А. В. Рапава, М. Ш. Гвилава. Фосфатрастворяющие бактерии в марганцевых рудах Чиатурского месторождения	244
ლ. სახვაძე, მ. იმნაძე, ა. რაფავა, მ. გვილავა. ფოსფატის დამშლელი ბაქტერიები ჭიათურის მანგანუმის საბადოში	
L. Sakhvadze, M. Imnadze, A. Rapava, M. Gvilava. Phosphate dissolving bacteria in Chiatura deposit	



К. А. Цинцадзе. Исследование некоторых иммунологических показателей при различных этиопатогенетических формах бронхиальной астмы в связи со специфической терапией

ქ. ცინცაძე. ბრონქული ასთმის სხვადასხვა ეტიოპათოგენეზური ფორმით დაავადებულთა გამოკვლევა ზოგადი იმუნოლოგიური მაჩვენებლის სპეციფიკურ მკურნალობასთან დაკავშირებით

К. А. Tsintsadze. Study of some immunological indices during bronchial asthma of different etiopathogenetic forms in reference to specific therapy

Г. И. Топчишвили, Н. М. Наврозашвили, А. Р. Егиазарова. Влияние ионизирующего излучения на взаимодействие ионов меди с холестеринном и белками в монослое

გ. თოფჩიშვილი, ნ. ნავროზაშვილი, ა. ეგიაზაროვა. იონიზაციის გამოწვევი გამოსხივების გავლენა მონომრებში სპილენძის იონთა ქოლესტერინთან და ცოლეზთან ურთიერთობაზე

G. I. Topchishvili, N. M. Navrozashvili, A. R. Egiazarova. The effect of ionizing radiation and copper ion action on the cholesterol and protein monolayers

Д. И. Джохадзе, М. И. Балашвили. Об эффекте рифамицина и экзогенной ДНК на транскрипцию клеточных ядер и хлоропластов

დ. ჯოხაძე, მ. ბალაშვილი. რიფამიცილისა და ეგზოგენური დნმ-ის ეფექტი უჯრედთა ბირთვებისა და ქლოროპლასტების ტრანსკრიფციაზე

D. I. Jokhadze, M. I. Balashvili. On the effect of rifamycin and exogenous DNA on the transcription of cell nuclei and chloroplasts

**Краткие сообщения**  
**შოკლე ცნობები**  
**Short Communications**

Н. А. Анели, Ц. П. Сулаквелидзе. Анатомическое строение семян некоторых видов наперстянок

ნ. ანელი, ც. სულაკველიძე. ზოგადი სახეობის სათითურების თესვების ანატომიური აგებულება

N. A. Anely, Ts. P. Sulakvelidze. The anatomical structure of seeds of some species of digitalis

Т. А. Баханашвили, Н. И. Майсов, Н. Г. Алексидзе. Захват дофамина и серотонина клетками глии и синапсосомами коры головного мозга кролика

თ. ბახანაშვილი, ნ. მაისოვი, ნ. ალექსიძე. ბოცვერის თავის ტვინის ქერქის გლუბური უჯრედებისა და სინაპტოსომების მიერ დოფამინისა და სეროტონინის შთანქვა

T. A. Bakhanashvili, N. I. Maisov, N. G. Aleksidze. Uptake of dopamine-H<sup>3</sup> and serotonin-C<sup>14</sup> by glial cells and synaptosomes of rabbit cerebral cortex

А. А. Козлов, Г. Д. Туманишвили. О возможных искажениях результатов в радиоавтографических исследованиях

ა. კოზლოვი, გ. თუმანიშვილი. ავტორადიოგრაფიული გამოკვლევების შედეგების შესაძლებელი დამახინჯების შესახებ

A. A. Kozlov, G. D. Tumanishvili. The possible distortion of autoradiographic results

Г. В. Микадзе, Н. И. Гогнадзе, М. В. Карселадзе, М. М. Заалишвили. Влияние хелатовов и ионов магния на сокращение плечочных нитей комплекса белков М—актомиозин

გ. მიკაძე, ნ. გოგნაძე, მ. კარსელაძე, მ. მ. ჯაალიშვილი. მავნების იონებისა და ხელატონების გავლენა პროტეინ M-სინთეზური აქტომიოზინის კომპლექსის შრიული ძაფების შეკუმშვაზე

G. V. Mikadze, N. I. Gognadze, M. V. Karseladze, M. M. Zaalishvili. The influence of chelations and magnium ions on the contraction of complex protein M-actomyosin film fibers

М. Ш. Симонидзе, Н. Ш. Надирашвили, М. М. Заалишвили. О реакционной способности сульфгидрильных групп α-актинаина

მ. შიმონიძე, ნ. ნადირაშვილი, მ. ჯაალიშვილი. α-აქტინინის სულფიდ-რილური ჯგუფების რეაქციაუნარიანობის შესახებ

M. Sh. Simonidze, N. Sh. Nadirashvili, M. M. Zaalishvili. On the reacting ability of α-actinin sulfhydryl groups

255

263

269

273

277

280

285

УДК 612.821.6+591.513

ФИЗИОЛОГИЯ ЧЕЛОВЕКА И ЖИВОТНЫХ

## ВЫРАБОТКА ВЗАИМОЗАВИСИМОГО ПОВЕДЕНИЯ ГОЛУБЕЙ В УСЛОВИЯХ ПЕРЕКРЕСТНОГО ПОДКРЕПЛЕНИЯ

В. М. Кения

Тбилисский государственный университет

Поступила в редакцию 30.3.1979

Проведено исследование взаимозависимого поведения голубей с использованием методик, применявшихся ранее для изучения так называемого «альтруизма» у обезьян. Методики модифицированы с учетом биологических и видовых особенностей подопытного животного. Результаты исследований оказались сходными с полученными ранее на обезьянах. Удалось показать, что в основе взаимозависимых реакций животных лежат выработанные цепные рефлексы. Контрольные опыты вновь убедили нас, что наблюдаемые реакции вряд ли нужно интерпретировать с позиции антропоморфизма.

16579  
В ряде работ, проведенных в последнее время на крысах, обезьянах и других животных, групповое поведение животных изучали в условиях, когда каждое из исследуемой пары животное воздействовало на манипулятор (рычаг, педаль и т. д.), а другое, сидящее в смежной клетке, получало при этом пищевое подкрепление [4, 5, 6].

Опыты проводились в условиях, когда одно животное избегало пищедобывательного воздействия на манипулятор, если это воздействие было связано с болевым (электрошок) раздражением другого [7, 8, 9, 10].

Описанные явления исследователи уподобляли проявлению у животных альтруизма, альтруистического самопожертвования. Имеются также работы, указывающие на отсутствие альтруизма или сотрудничества у животных [11, 12].

Нам удалось опровергнуть антропоморфическую интерпретацию полученных результатов проведением подобных опытов на обезьянах [3]. Результаты были объяснены в свете условнорефлекторной теории. Наблюдаемые в опытах с парами обезьян условнорефлекторные реакции имели вид цепных рефлексов, звеньями которых были такие раздражители, как партнер — манипулятор — пища.

В таких условиях у обезьян формировались внутригрупповые рефлексы, когда воздействие одного из партнеров на манипулятор служило бы условным сигналом для получения пищи другим животным.

С целью проверки данных, полученных на обезьянах, в филогенетическом аспекте представляет интерес проведение точно таких же опытов на голубях.

В литературе не встречалось исследований в области взаимозависимого поведения голубей в описанных условиях, поэтому наш выбор и пал на этот вид животных.

3. 036 7.05 688. 688.  
688. 036 7.05 688.  
688. 036 7.05 688.  
688. 036 7.05 688.

Как и в ранних опытах на обезьянах [3], для решения поставленной задачи необходимо было использовать такие методические приемы, при которых приспособительное поведение одной особи находилось бы в зависимости от другой.

Для этого использовалась клетка, разделенная посередине прозрачной (плексиглас) перегородкой (рисунок). Голуби размещались в отдельных отсеках клетки, но через прозрачную перегородку (С) могли иметь визуальный и слуховой контакт друг с другом.

В качестве манипулятора, являющего собой «орудие» пищедобывания — так как воздействие на него сопровождалось пищевым (зерно пшеницы) подкреплением одной из особей пары, использовалось устройство в виде подвижного рычага (2) с подвешенной на нем нити с бусинкой (1). Прозрачная перегородка на фронтальной стороне клетки разделяла круглую металлическую кормушку на две половины таким образом, что одна половина ( $K_1$ ) оказывалась в левой части клетки, а другая ( $K_2$ ) — в правой. В каждую половину кормушки ( $K_1$  и  $K_2$ ) опускаются замкнутые подвижными пластинками у основания трубки ( $T_1$  и

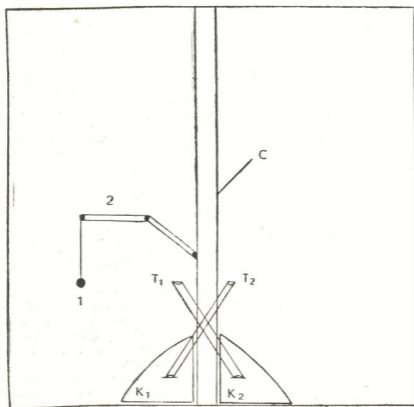


Рис. Экспериментальная модель взаимозависимого поведения голубей: 1 — бусинка; 2 — подвижной рычаг; С — прозрачная перегородка;  $K_1, K_2$  — левая и правая кормушки;  $T_1$  и  $T_2$  — трубки сбрасывания зерна

$T_2$ ), противоположные отверстия которых направлены в сторону экспериментатора, периодически заправляющего ту или иную трубку зерном. Системой резинок пластинки связаны с подвижным рычагом, вмонти-





рованным в левом отсеке клетки. Дерганье бусинки, подвешенной на рычаге, сопровождалось потягиванием нити, перемещением подвижного рычага и натяжением системы резинок, приводящих к открыванию основания трубок и эвакуации зерна в одну из кормушек.

В опытах использовались беспородные голуби, сгруппированные в две пары. Перед опытом голуби не кормились.

Цель методического приема заключалась в том, чтобы голубь «Демонстратор» («Д») воздействовал на бусинку, а голубь «Зритель» («З») получал бы при этом подкрепление. И так 15 раз, после чего «Д» и «З» менялись местами. Данная методика позволяет вести наблюдения в условиях, когда каждый голубь «Д» может относительно долго (15 раз за один опыт, всего 50 опытов) осуществлять пищедобывательное воздействие на манипулятор без доступа к пище при систематическом подкреплении партнера «З» и при периодической смене местами «Д» и «З» (смена производится один раз за опыт).

Опыты проводились в два этапа. В подготовительном этапе каждый голубь «Д» 4 опытных дня обучался (известным методом провоцирования) дергать бусинку и получать по 15 раз зерно в своей кормушке ( $K_1$ ). Партнер «З» данной пары сквозь перегородку наблюдал в смежном отсеке за поведением «Д» до того, пока его самого не перевели на роль «Д». Оказалось, что для каждого «Д» достаточно было 4-х опытных дней, чтобы научиться 15 раз (за опыт) дергать бусинку и получать соответствующее число зерен, и чтобы каждый раз, исполняя роль «Д», самостоятельно с индивидуальной скоростью (временной параметр) выполнять пищедобывательную реакцию.

Затем, исходя из условия задачи, переход к критическому эксперименту осуществлялся таким образом, что дерганье бусинки «Д» сопровождалось выпадением зерна в противоположном отсеке клетки (кормушка № 2) и поеданием его «З». Если один из голубей при подобном перекрестном подкреплении в течение 5 мин не прикасался к бусинке будучи в роли «Д», то опыт прекращали, и на его место помещали партнера «З». Если каждый голубь будучи «Д» 15 раз дергал бусинку, то его реакция считалась 100%-ной. Результаты опытов протоколировались.

Необходимо было проследить закономерности динамики формирования пищедобывательных реакций у голубей в условиях взаимозависимости (критический эксперимент) и в условиях контроля.

## РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИИ

Табл. 1, отражающая временные параметры 100%-ного воздействия на бусинку каждого голубя, дает сравнительную характеристику результатов этих воздействий у голубей в подготовительном и критическом этапах исследования. Среднее время, затрачиваемое для 15 воздействий (100%) за опыт, в подготовительном этапе почти не отличается от средних временных параметров, наблюдаемых у голубей в начальном периоде критического эксперимента. В дальнейшем при систематической тренировке (40—50 опытов) временные параметры 100%-ного воздействия меняются (хотя они индивидуальны для каждого голубя) в сторону некоторого увеличения, и в последних опытах достигают величины, приближающейся к числовой характеристике параметров подготовительного этапа, оставаясь такими до конца экспериментов.

Формирование описанных пищедобывательных реакций осуществлялось постепенно. Сначала наблюдалась полная независимость одного животного от другого (подготовительный этап и начальный период критического эксперимента). Затем систематическая тренировка условий критического эксперимента приводит к тому, что поведение голубей ста-

новится зависимым друг от друга. Стоило «Д» оказаться у бусинки или прикоснуться к ней, как «З» вмиг бросался (а до этого беспокойно ждал у кормушки № 2) к кормушке, стучал клювом по пластинке, запирающей кормушку, и по перегородке в том месте, где была подвешена бусинка, и, наконец, получив зерно вслед за дерганием, «З» занимал такое положение в своем отсеке, которое обеспечивало ему наиболее быстрое получение пищи в случае, если «Д» дернет бусинку. Было ясно видно, что во всех опытах каждый «З» зависел от каждого «Д».

Таблица 1

Динамика стабилизации временных параметров у голубей в подготовительном и критическом экспериментах

Голуби	Подготовительный этап		Основной (критический) этап					
	индивидуальное одновременное подкрепление		начальный период подкрепления партнера		средний период подкрепления партнера		дальнейший период подкрепления партнера	
	% воздействия во время опыта	время, затраченное на каждые 15 воз- действий, мин	% воздействия во время опыта	время, затраченное на каждые 15 воз- действий, мин	% воздействия во время опыта	время, затраченное на каждые 15 воз- действий, мин	% воздействия во время опыта	время, затраченное на каждые 15 воз- действий, мин
Кочора	100	2—3	100	2—3	100	6—10	100	2—3
Шавзола	100	2	100	2—4	100	5—15	100	2—4
Лурджа	100	3—6	100	4—6	100	6—10	100	2—4
Чрела	100	2—4	100	3—5	100	5—9	100	3—4

Итак, подопытные голуби, сбучившись воздействию на бусинку в подготовительном этапе, за немедленное пищевое вознаграждение смогли научиться дергать ее и в критическом эксперименте, когда за дергание стали получать пищу только будучи во второй клетке в роли «З».

Выработанные пищедобывательные реакции отличались стойкостью, неугасаемостью и яркой иллюстрируемостью взаимозависимости: у каждого голубя выработалась реакция по 15 раз дергать бусинку (в роли «Д») и получать в ответ на деятельность партнера зерно (в роли «З»).

Голубей с выработанными взаимозависимыми реакциями мы подвергали контрольным испытаниям: а — отсутствие партнера «З» в смежной клетке (с сохранением выпадания пищи в  $K_2$  при дергании «Д»); б — отсутствие пищи (пища не поддается в  $K_2$  присутствующему зрителю) при воздействии «Д» на бусинку. В обоих случаях 2-разового контроля голуби «Демонстраторы» с выработанными пищедвигательными реакциями после 50 перекрестных опытов продолжали воздействовать на бусинку как в условиях отсутствия партнера в смежной клетке, так и в случае, если присутствующий партнер «З» не получал пищи.

Табл. 2 отражает результаты 2-х контрольных опытов, в которых голуби могли продолжительно долго за каждый опыт воздействовать на бусинку в отсутствие партнера «З», либо в его присутствии, но без подкрепления его пищей. Во время контрольных опытов, в случае, когда «З» не получал зерна при воздействии на бусинку «Д», было замечено, что стоило «Д» дернуть бусинку, как «З» по-прежнему занимал положение, способствующее легкой добыче пищи, но не получив ее, вновь ухо-



дил в угол в ожидании следующего воздействия «Д» на бусинку. «Д» мог до 200 раз за опыт дергать бусинку, так и не «способствуя» кормлению партнера «З». Только после 200 проб реакцию «Д» на рычаг удавалось угасить.

2-разовый контрольный опыт был поставлен с целью проверить имеет ли место альтруизм у голубей. Можно было бы предположить наличие у особей альтруизма, если без партнера «З», обычно в критическом опыте получающем пищу, в контроле с отсутствием зрителя «Д» прекратил бы дергать бусинку, связанную с кормлением отсутствующего «З». Однако этого не произошло. 2-разовый контрольный опыт показал, чем руководствовалось поведение животных — выработанной реакцией на бусинку или добротой к соседу.

Контрольные опыты

Таблица 2

Голуби	Контроль № 1 (нет партнера, но пища подается)		Контроль № 2 (есть партнер, но пища не подается)	
	% воздействия за опыт	число проб	% воздействия за опыт	число проб
Кочора	100	200	100	200
Шавзола	100	200	100	200
Лурджа	100	200	100	200
Чрела	100	200	100	200

Примечание: после 200 проб реакция голубей угасает

Наблюдаемые реакции голубей в условиях контроля (продолжение воздействия на бусинку) дают все основания для суждения об условнорефлекторном характере наблюдаемых автоматизированных реакций с перекрестным подкреплением, где каждая особь входит в цепь раздражителей, ведущих к пище. Контрольные опыты помогают понять исследователю известное положение И. П. Павлова и его последователей относительно свойств условных рефлексов — не угасать долго в отсутствии тех или иных компонентов в цепи раздражителей и в присутствии хотя бы одного из них (в нашем случае: нет партнера, но есть пища; нет пищи, но был партнер). Более длительные отсутствие компонентов в цепи раздражителей ведет к угасанию рефлексов, но индивидуально у разных видов животных [1].

Специфика групповых опытов проявилась в том, что здесь угасание двигательных реакций животных, не подкрепленных некоторыми компонентами цепи раздражителей, оказалось более затрудненным. Чтобы убедиться в этом, мы выбрали для опыта двух голубей, у которых была выработана пищедобывательная реакция воздействия на бусинку отдельно от партнера (т. е. вне группы). Ее удалось выработать за 4 опытных дня и угасить за один опытный день, не давая голубю за 50 дерганий зерен, после этого он вообще не подходил к бусинке и кормушке. В групповом опыте угашение пищедобывательной реакции у голубей, как видно из контроля, произошло только после 200-го неподкрепления двигательной реакции на бусинку.

#### ОБСУЖДЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ

Результаты экспериментов показали, что подготовительный этап, где голубям предстояло обучиться дергать за бусинку и получать од-



современно пищу, занял всего 4 опытных дня. Возможность у голубей выработки подобных пищедобывательных реакций (дергание подвешенной бусинки), тем более что они соответствуют биовидовым особенностям изучаемого животного, не вызывают сомнения и не требуют специального обсуждения (эта способность у голубей описывалась неоднократно). Большой интерес может представить обсуждение результатов формирования взаимозависимого пищедобывания у голубей в условиях критического эксперимента. Не менее интересно обсудить также описанные опыты в условиях примененного контроля для проверки утверждений западных зоопсихологов, что подобные наблюдаемые в опытах реакции носят альтруистический характер.

Начнем с обсуждения критического опыта в свете условнорефлекторной теории. Итак, на основании наблюдений, опираясь на продолжительный опыт работы под руководством Л. Г. Воронина и находясь под влиянием его известных трудов, можно думать, что в коре больших полушарий головного мозга голубя-зрителя «З» во время наблюдения за действиями голубя-демонстратора «Д» возникают два очага возбуждения. Один из этих очагов создается при виде «демонстратора», воздействующего на рычаг, другой от подкрепления в этот момент пищей. По принципу совпадения во времени между этими очагами устанавливается связь. Таким образом, для «З» «Д» становится компонентом условнорефлекторной цепи, состоящей из трех членов: «Д» — воздействие на рычаг — пища «З». При переходе голубя с роли «З» на роль «Д» воздействие на рычаг с бусинкой у него, по-видимому, можно объяснить тем, что теперь данный рычаг с бусинкой является для него средним членом из прочно выработанной цепи — «Д» — манипулятор — пища, который воспроизводит в коре мозга голубя, бывшего «зрителем», проторенный путь (временную связь) «Д» — манипулятор — пища. «Д» же, перешедший на роль «З», для «З», перешедшего на роль «Д», является первым звеном трехчленной цепи «Д» — манипулятор — пища.

Итак, у голубя «З» воздействие на рычаг связывалось с получением пищи. Поэтому в роли «Д» голубь воздействовал на бусинку даже не получая пищи, т. е., говоря физиологическим языком, вид рычага с бусинкой и воздействие на него возбуждало корковое представительство пищевого центра. Следовательно, возбуждение к пищевому центру иррадирует от двух очагов: двигательного-кинестетического, связанного с воздействием на рычаг, и зрительного, связанного с видом «демонстратора».

Достижение голубьями 100%-ного воздействия на рычаг (т. е. 15 воздействий за опыт) в условиях подкрепления партнера осуществлялось постепенно. Последнее отражено в изменении временных параметров воздействия на рычаг и обнаруживается при сравнении подготовительного и основного (критического) этапов работы с голубьями (табл. 1). Если в начальном периоде основного этапа работы, когда за пищедобывательное воздействие на рычаг подкрепление получал уже не «Д», а «З», время, затрачиваемое на 15 воздействий (100%-ная реакция), существенно не отличалось от временных параметров подготовительного этапа, когда подкрепление получал сам «Д», то можно допустить, что у голубей обнаруживалась генерализованная реакция пищедобывательного манипулирования с бусинкой. Дальнейшее изменение временных параметров 100%-ного воздействия на рычаг в условиях критического эксперимента, по-видимому, объясняется концентрацией возбуждения в районе временной связи функционального комбинационного центра (созданного от вида рычага и вида партнера, воздействующего на рычаг) и коркового представительства пищевого центра. Окончательная стабилизация временных параметров 100%-ного воздействия

на рычаг в области определенной величины объясняется автоматизацией пищевой пищедобывательного рефлекса и его специализацией.

Как указывалось выше (контрольные испытания), голуби могли продолжительно долго воздействовать на рычаг и без подкрепления. Последнее объясняется тем, что систематическая тренировка пищедобывательной реакции воздействия на рычаг приводит к тому, что отсутствие в цепи раздражителей одного из компонентов не влияет на воспроизведение прочно закрепленных временных связей и осуществление выработанной цепи движений. Поэтому голуби могут воздействовать на тот или иной манипулятор, ранее связанный с подкреплением, даже без подкрепления или в отсутствии в цепи раздражителей одного из компонентов (в наших опытах — отсутствие пищи или партнера). Это происходит потому, что кинестетические раздражения, синтезированные в определенной последовательности, становятся ведущими сигналами цепной двигательной реакции [2].

Результаты исследования показали, что наблюдаемые в опытах взаимоотношения между голубями, направленные на пищедобывание, носят условнорефлекторный характер и представлены сложными цепными реакциями. Итоги экспериментов и контрольные испытания не дают оснований для интерпретации наблюдаемых явлений с позиции антропоморфизма.

### ЛИТЕРАТУРА

1. Воронин Л. Г. Физиология высшей нервной деятельности, «Высшая школа», М., 1979.
2. Воронин Л. Г. В сб.: Руководство по физиологии. Физиология высшей нервной деятельности, I, «Наука», М., 1970, 473—506.
3. Кения В. М. Физиологический анализ элементов группового поведения низших обезьян. Автореф. канд. дисс., МГУ, М., 1974.
4. Baron A. a. Littman R. A. Genet. Psychol. Monogr., 64, 129—209, 1961.
5. Boren J. J. J. Exper. anal. Behav., 96, 691—700, 1966.
6. Colman A. D., Liebold K., Boren J. J. Psychol. Record., 19, 3, 401—405, 1969.
7. Lavery J. J., Foley P. J. Science, 140, 172—173, 1963.
8. Masserman J. W., Wechkin S., Terris W. Amer. J. Psychiat., 121, 584—585, 1964.
9. Orwin W. Zenith, 6, 2, 10—12, 1969.
10. Rice G. E., Gainer P. J. Comp. Physiol. Psychol., 55, 123—125, 1962.
11. Wolffe D. L., Wolffe H. M. J. Genet. Psychol., 55, 137—175, 1939.
12. Fady J. Behaviour, 43, 157—164, 1972.

მტრედებში ურთიერთდამოკიდებული ქცევის გამომწვევება უპირობო გამღიზიანებლათან ჯვარედინად ვებულეების პირობებში

3. ანონა

თბილისის სახელმწიფო უნივერსიტეტი

რ ე ზ ი უ მ ე

აღწერია მტრედების ურთიერთდამოკიდებული ქცევის შემსწავლელი მეთოდთა. ეს მეთოდთა წარმოადგენს აქამდე ცნობილი, მაიმუნთა „ალტრუიზმის“ და „თანამშრომლობის“ შესასწავლად შემოღებული მეთოდის მოდი-



ფიქციას. მეთოდური ხერხების სიმარტივე საშუალებას იძლევა, რომ რიმენტის მინიმალურ პირობებში მივიღოთ და შევისწავლოთ ურთიერთდამოკიდებული ქცევის რთული აქტები.

ნაშრომში აღწერილია ისიც, თუ როგორია ამ მეთოდის საშუალებით გამოვლინებული შიდაჯგუფური რეფლექსების ძირითადი თვისებები, რომლებიც წამყვან როლს ასრულებენ ურთიერთდამოკიდებული ქცევის ჩამოყალიბებაში.

ELABORATION OF INTERDEPENDENT BEHAVIOUR IN PIGEONS DURING CROSSED REINFORCEMENT OF UNCONDITIONED STIMULI

V. M. KENIA

State University, Tbilisi, USSR.

S u m m a r y

An experimental method used to study interdependent behaviour of animals (pigeons) is described.

The methods offered by the author are the modifications of the models known before for studying the so-called «altruism» and «cooperation» among the monkeys. The simplicity of the methods allows the researcher to obtain and observe the complex acts of interdependent behaviour under minimal conditions of the experiment.

The main properties of the reflex elaborated by this method, which play a leading role in the formation of interdependent behaviour, are discussed.



УДК 612.132

ФИЗИОЛОГИЯ ЧЕЛОВЕКА И ЖИВОТНЫХ

## НОВАЯ ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНАЯ МОДЕЛЬ ИШЕМИИ МИОКАРДА

О. А. Чантурая, Т. С. Хуцишвили

*Институт клинической и экспериментальной кардиологии МЗ ГССР, Тбилиси*

Поступила в редакцию 25.10.1979

Рассматривается новая операционная методика воспроизведения экспериментальной модели ишемии миокарда на собаках путем постоянной обтурации передней межжелудочковой ветви левой коронарной артерии ауто-трансплантатом на ножке из перикарда или ушка левого предсердия. Адекватность моделируемого патологического состояния сердца клинической форме ишемии миокарда подтверждается объективными методиками изучения состояния сердечно-сосудистой системы.

В литературе известны разные способы воспроизведения ишемии миокарда: окклюзией передней межжелудочковой ветви левой коронарной артерии путем ее эмболизации [7], обтурацией коронарных артерий и их ветвей введенным в их просвет различных веществ, вызывающих облитерацию сосудов [4], перевязкой ветвей коронарных артерий на разных уровнях [2, 5, 6, 9, 10, 12]. Все эти вмешательства дают возможность исследовать на экспериментальных моделях [3] изменения постинфарктного поражения сердца.

Однако существующие способы воспроизведения ишемии миокарда, вызывающие внезапное прекращение кровотока по коронарным сосудам или временное прекращение с последующим восстановлением кровотока в коронарной сети, не позволяют получить экспериментальную модель, на которой можно было бы изучить патологические сдвиги при постоянном изменении кровотока в миокарде с последующей и постепенной обтурацией просвета коронарной артерии.

В связи с вышесказанным представляется интересной разработка хирургической методики создания в передней межжелудочковой ветви левой коронарной артерии постоянно меняющегося кровенаполнения механического препятствия, приводящего к обтурации ее просвета.

### МАТЕРИАЛ И МЕТОДИКА

С целью разработки операционной методики по созданию постоянного, ритмического с сердечными сокращениями, сужения просвета передней межжелудочковой ветви левой коронарной артерии было оперировано 20 беспородных собак весом от 15 до 22 кг. Во время операции пало 4 животных, а у 16 оставшихся в живых исследования были проведены в динамике. Из 16 подопытных животных у 8 препятствие кровотоку по передней межжелудочковой ветви левой коронарной артерии было создано из перикардального лоскута, а у 8 — лоскутом выкроенного из ушка левого предсердия.

Хирургическое вмешательство на наркотизированных собаках проводилось в условиях управляемого дыхания. После левосторонней торакотомии в IV межреберье, параллельно и спереди от левого диафрагмального нерва, перикард рассекался от основания до верхушки сердца. Переднюю межжелудочковую ветвь левой коронарной артерии выделяли на 1—1,5 см от уровня нижнего края ушка левого предсердия. С края перикардального разреза выкраивали продольный лоскут на ножке длиной 2—2,5 см и шириной до 0,5 см. При проведении лоскута на ножке под освобожденный участок сосуда, с пришиванием его свободного конца к краю перикардального разреза, артериальная ветвь умеренно натягивалась без полного перекрытия ее просвета (рис. 1). В 4-х случаях свободный конец перикардального лоскута пришивали к краю ушка с умеренным натягиванием сосуда. В обоих вариантах операции в зоне перетяжки было замечено сужение, с последующим ритмическим расправлением, просвета сосуда, зависящее от сердечных сокращений.

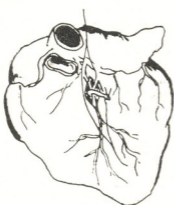


Рис. 1. Выделенный участок передней межжелудочковой ветви левой коронарной артерии в муфте перикардального лоскута



Рис. 2. Создание мышечной перемычки из аурикулярного лоскута для окклюзии коронарной артерии

Нарушение веночного кровообращения в 8 случаях было осуществлено путем использования мышечного лоскута из ушка левого предсердия. Для осуществления операции на край ушка левого предсердия аппаратом ушивателя ушка на 4/5 его ширины накладывался механический шов. Параллельно, чуть ниже линии шва, отжатая аппаратом часть ушка отсекалась для получения лоскута на ножке, связанной с ушком размером 2—3 см × 2—3 мм. Аурикулярный лоскут проводился под отпрепарированной частью передней межжелудочковой ветви левой коронарной артерии с пришиванием его свободного конца к медиальному краю ушка левого предсердия (рис. 2).

К концу операции перикардальный разрез суживали 2—3 узловыми швами, операционную полость орошали антибиотиками и грудную клетку зашивали послойно наглухо. У подопытных животных в динамике снимали электрокардиограмму до и после операционного вмешательства, а также перед забиванием. В некоторых случаях снимали рентгенокинограмму сердца и пункционно измеряли систолическое давление в полостях сердца.

Оперированных собак, в условиях наркоза и управляемого дыхания, забивали в намеченные сроки. Венечные артерии свежеизвлеченного сердца контрастировали свинец-желатиновой смесью и рентгенографи-



ровали. Ишемизированный миокард исследовали макро- и микроскопически.

## РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Степень коронарной недостаточности и хроническое течение этого состояния вследствие нарушения коронарного кровообращения оценивали по данным электрокардиографии, рентгенокимографии, контрастной вазографии, макро- и микроскопически. Сопоставлением ЭКГ данных, полученных на разных этапах опытов, стало возможным проследить и выявить характер течения коронарной недостаточности. У экспериментальных животных (20 собак) исходная ЭКГ оказалась нормальной и малоизмененной. Непосредственно после операции у 4-х развилась фибрилляция желудочков с последующей асистолией. У оставшихся в живых 16 собак на фоне тахикардии появились признаки коронарной недостаточности в виде инверсии сегмента ST и зубца T ниже изоэлектрической линии, а в грудных отведениях отмечались ишемические T зубцы. (рис. 3а). Острые явления коронарной недостаточности с сопутствующим нарушением проводимости и ритма сердца у большинства оперированных животных сглаживались к концу второй недели. Через месяц после операции у подопытных животных превалировали электрокардиографические признаки хронической коронарной недостаточности, которые сохранялись до 2—3-месячного срока наблюдения (рис. 3б).

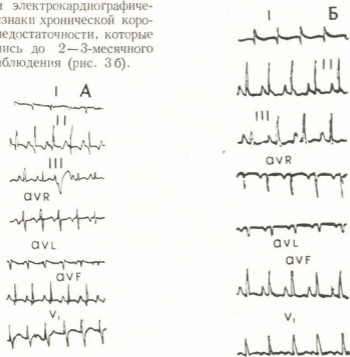


Рис. 3. Электрокардиограмма собаки сразу после операции (а) и через два месяца после нее (б)

Исследования общей и внутрисердечной гемодинамики показали, что спустя 2—3 месяца у животных с коронарной недостаточностью минутный объем сердца, артериальное давление и систолическое давление в желудочках умеренно снижаются при нормальном венозном давлении.

На контрастных вазограммах венечных артерий препаратов сердца в отдаленные сроки наблюдения — через 2—3 месяца после вмеша-



тельства — было отмечено обеднение сосудистой сети в зоне васкуляризации передней межжелудочковой ветви левой коронарной артерии. В некоторых случаях была выражена «ампутация» облитерированного сосуда. На всех контрастных вазограммах отмечалось усиление межкоронарных анастомозов, а в 2-х случаях наблюдалось ретроградное заполнение до места окклюзии сосуда.

Рентгенокимографией выявлено умеренное снижение сократительной способности миокарда, что выражалось в понижении амплитуды сокращений по контурам как левого, так и правого желудочка.

Макроскопически, спустя 2—3 месяца после операции, на свежезвлеченных сердцах отмечалось развитие плотных сращений в области верхней трети передней межжелудочковой ветви левой коронарной артерии, рубцовые изменения с пери-эпикардальными сращениями в зоне передне-боковой стенки левого желудочка, а на разрезе инфарктированного участка — рубцовое перерождение и истончение стенки левого желудочка.

Микроскопически в зоне наложения перикардальной или аурикулярной «муфты» отмечались резкие рубцовые изменения, наиболее выраженные через 2—3 месяца после операции, тогда как облитерация сосуда отсутствовала в ближайшие после операции сроки (через 2 недели или через один месяц) и просвет сосуда был проходим, несмотря на нарастание рубцовых изменений (рис. 4).

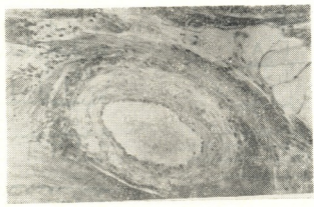


Рис. 4. Уменьшение просвета коронарной артерии за счет утолщения мышечного слоя и развития периваскулярной соединительной ткани. Срок наблюдения 2 месяца. Окраска гематоксилин-эозином. х 200

Из многочисленных факторов, вызывающих нарушение коронарного кровообращения, в литературе указывают на анатомический вариант расположения магистральных венечных сосудов в толще миокарда [8, 13]. Такой тип расположения артериальных сосудов нередко наблюдается со стороны передней межжелудочковой ветви левой коронарной артерии. В подобных случаях сегмент артериальной ветви, в ее верхней и средней третях, оказывается в своеобразной мышечной «петле», что создает условия для образования атероматозных изменений в сегментах коронарных артерий.

Учитывая вышеприведенные данные, для моделирования коронарной недостаточности операционным путем нами создавались механические препятствия в виде «муфт» из перикарда или ушка левого предсердия.



Осуществление этой операции на собаках вызывало особые гемодинамические сдвиги: нарушался ламинарный кровоток по передней межжелудочковой ветви левой коронарной артерии; постоянное и ритмическое прекращение кровоснабжения зоны, орошаемой этой ветвью, вызвало ишемическое состояние миокарда. Вследствие развития адгезивных явлений в участке препятствия просвет сосуда постепенно суживался и к концу 2—3-го месяца облитерировался.

Таким образом было моделировано состояние коронарной недостаточности у собак, адекватность клинической форме которой прослежена в динамике до 3-х месяцев в условиях хронического эксперимента, что подтверждено объективными методами исследования сердечно-сосудистой системы.

Полученные в эксперименте результаты, по нашему мнению, могут быть подспорьем для подробного изучения патогенеза ишемической болезни сердца при ее разном происхождении и развитии, в частности в случаях анатомических вариантов расположения ветвей коронарных артерий в толще миокарда.

ЛИТЕРАТУРА

1. Туревич М. И., Квитницкий М. Е. Врач. дело, 11, 20—24, 1962.
2. Джавахишвили Н. А., Комахидзе М. Э. Сосуды сердца, «Медицина», М., 1963.
3. Косицкий Г. И. Кардиология, 10, 150—151, 1972.
4. Кобахидзе М. Л. Материалы по воспроизведению хронической коронарной недостаточности и ее экспериментальной терапии. Автореф. докт. дисс., Тбилиси, 1971.
5. Лисицин М. С. Современная хирургия, 11, 4—12, 1927.
6. Лопухин Ю. М. Экспериментальная хирургия, «Медицина», М., 1971.
7. Ментова В. Н. Воспроизведение заболеваний у животных, «Медгиз», М., 1954.
8. Смольяников А. В., Наддачина Т. А. Патологическая анатомия коронарной недостаточности, «Медгиз», М., 1963.
9. Твилдиани Д. Д. О моделировании коронарной недостаточности в хроническом эксперименте, «Сабчота Сакартвелო», Тбилиси, 1971.
10. Фохт А. Б. Патология сердца, «Наука», М., 1920.
11. Чазов Е. И. Тер. архив, 12, 3—5, 1977.
12. Шахбазян Е. С. Экспериментальные материалы по вопросу о нарушении венозного кровообращения сердца, «Медгиз», М., 1940.
13. Stolle M., Weis P., Prestele H. Virchows Arch. Abt. A. Path. Anat. Histol., 375, 1, 23—36, 1977.

მიოკარდის იშემიის ახალი ექსპერიმენტული მოდელი

თ. ზანტურაია, ბ. ხუციშვილი

საქართველოს ვანრთელოზის სამინისტროს კლინიკური და ექსპერიმენტული კარდიოლოგიის ინსტიტუტი, თბილისი

რ ე ზ ი უ მ ე

აღწერილია ძალღებში მიოკარდის იშემიის ახალი ექსპერიმენტული მოდელი: მარცხენა გვირგვინოვანი არტერიის პარკუჭთაშუა წინა ტოტის პერიკარდის ან მარცხენა წინაგულის ყურის ნაფლეთოვანი აუტოტრანსპლანტანტი ხდება სისხლძარღვის თანდათანობითი დაზოზა და ეს იწვევს მიოკარდის იშემიას.



აღწერილი მოდელით შესაძლებელი ხდება მიოკარდის იშემიის  
კვლევა ქრონიკულ ცდაში. მოყვანილია გულსისხლძარღვთა სისტემის ობიექ-  
ტური მეთოდებით გამოკვლევის შედეგები, რომლებიც ცხადყოფენ, რომ მი-  
ღებული მოდელით გამოწვეული მიოკარდის იშემიის სურათი შეესაბამება ამ  
პათოლოგიის კლინიკურ სურათს.

## A NEW EXPERIMENTAL MODEL OF MYOCARDIAL ISCHEMIA

O. CHANTURAI, T. KHUTSISHVILI

Institute of Clinical and Experimental Cardiology, Ministry of Health of the  
Georgian SSR, Tbilisi, USSR

### S u m m a r y

A new operative model of experimental myocardial ischemia in dogs  
obtained by a gradual obturation of the anterior interventricular branch of  
the left coronary artery or by autotransplant on the crus from pericardium or  
auricular of the left auricle is considered. Adequity of this pathological con-  
dition to the clinical form of new cardiac ischemia is confirmed by objective  
methods of investigation of cardiovascular system.



УДК 611.018.84:813.12—591.88

ГИСТОЛОГИЯ

**К ВОПРОСУ О РАСПРЕДЕЛЕНИИ ОЛИГОДЕНДРОЦИТОВ  
В АССОЦИАТИВНОЙ И ИНТЕГРАТИВНОЙ КОРЕ  
СУПРАСИЛЬВИЕВОЙ ИЗВИЛИНЫ КОШКИ  
(КОЛИЧЕСТВЕННЫЕ ДАННЫЕ)**

**М. Р. Купарадзе**, **Н. А. Костенко**

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

Поступила в редакцию 25.4.1979

Методом количественного анализа были изучены две смежные области ассоциативной коры супрасильвиевой извилины кошки, в частности, исследовалось распределение олигодендроцитов во всех слоях. Результаты показали, что смежные области Itsp и reVp имеют как общие черты (увеличение количества олигодендроцитов и нейронов с олигосателлитами от II слоя к VI слою коры; численное превосходство сателлитных олигодендроцитов над свободными), так и различия: (поле reVp более густоклеточно; в нем больше свободных олигодендроцитов; нарастание числа олигосателлитов и числа нейронов с олигосателлитами по направлению от II слоя к VI в reVp больше, чем в Itsp).

Делается заключение, что в двух смежных областях, близких с функциональной точки зрения, глио-нейрональные отношения различны.

Для различных отделов коры головного мозга характерны разные типы клеточной организации, как нейронной, так и глиальной. В связи с тем, что данные по регионарной глиоархитектонике коры далеко неполные, различные схематические варианты структуры коры, приводимые в атласах, основаны только на цито- и миелоархитектонических данных.

Между тем, полученные к настоящему времени сведения о метаболических взаимоотношениях между нейронами и глией [2, 3, 14, 12, 13] указывают на важные связи между этими типами клеток и подчеркивают необходимость системного подхода к исследованию коры с учетом всех тканевых элементов, которые в совокупности определяют архитектурный рисунок коры [4, 7].

Следует подчеркнуть, что до настоящего времени в качестве элементарной интегративной единицы принимали нейрон. В настоящее время целый ряд экспериментальных данных [6, 15, 16, 17, 18], а также гипотез указывает на соучастие глии в высших функциях мозга [4, 5, 10, 11] и, таким образом, направляют поиски морфологических исследований на выявление нейроглиальных отношений в коре и, в частности, в ее ассоциативных полях, интегративные возможности которых трудно объяснимы одними описаниями организации нейронных комплексов [1, 8].

Используя метод количественного анализа, мы исследовали два поля супрасильвиевой извилины кошки — Itsp и reVp. Согласно данным литературы, поле Itsp представляет собой кору с интегративной

Таблица

## Распределение нейронов и олигодендрцитов в полях рсУр и Іср

Слон	Поле рсУр										Поле Іср									
	Общее кол-во		Нейроны с олигодендритами		Олигодендриты		Свободные олигодендрциты		Гликонейро-вальный индекс		Общее кол-во		Нейроны с олигодендритами		Олигодендриты		Свободные олигодендрциты		Гликонейро-вальный индекс	
	нейр.	ол.	к-во	%	к-во	%	к-во	%	ст. ол. ст. нейр.	ст. ол. ст. нейр.	нейр.	ол.	к-во	%	к-во	%	к-во	%	ст. ол. ст. нейр.	ст. ол. ст. нейр.
II	565	228	47	1,1	48	1,75	180	6,6	1,02	3,83	1139	121	62	1,5	63	2,8	58	2,6	1,01	0,93
III	841	436	172	3,9	207	7,58	229	8,4	1,20	1,33	189	241	127	3,0	144	6,3	97	4,3	1,13	0,76
IV	941	661	260	5,9	332	12,1	279	10,1	1,27	1,07	861	574	287	6,6	376	16,6	198	8,7	1,31	0,69
V	703	720	253	5,8	360	13,1	300	13,1	1,42	1,42	556	676	255	6,1	379	16,8	277	12,2	1,48	1,69
VI	902	749	327	7,5	485	16,68	291	10,6	1,40	0,89	817	674	295	6,7	357	16,1	307	13,5	1,24	1,64
Общее	4382	2744	1059	24,2	1405	51,2	1339	48,8	1,33	1,29	4162	2966	1026	23,9	1329	58,6	937	41,3	1,29	0,91

Примечание:  $\frac{\text{ст. ол.}}{\text{ст. нейр.}}$  — Индекс олигодендриты/нейрон с олигодендритами

$\frac{\text{ст. ол.}}{\text{ст. нейр.}}$  — Индекс свободные олигодендрциты/нейрон с олигодендритами

ол.—олигодендрциты

нейр.—нейроны



функцией, тогда как поле *peVp* входит в состав перистриарного пояса таким образом, осуществляет ассоциацию сенсорных ощущений [19].

Для количественной оценки соотношения между нейронами и олигодендроцитами нами были подсчитаны ядра нейронов, ядра олигодендроцитов и число нейронов, имеющих олигодендроциты в качестве сателлитов, в каждом отдельном слое коры. Такие нейроны мы условно обозначаем как нейроны с олигосателлитами.

Мозг фиксировался в 10%-ном формалине, кусочки мозга заливались в парафин. На срезах толщиной 15 мкм, окрашенных галлоцианином по Эйнарсону, подсчитывались ядра в 100 полях зрения. Общая площадь исследованной коры — 0,8 мм<sup>2</sup>.

Результаты подсчетов показали, что нейроны, имеющие олигосателлиты, от слоя к слою (II—VI) возрастают в числе. От поверхности коры по направлению к внутренним ее слоям увеличивается и число олигодендроцитов.

Если олигодендроциты условно разбить на две группы: на свободные, т. е. несателлитные (волокнистые и сосудистые) и на сателлитные, то можно выявить следующую закономерность количественных соотношений: 1) доля сателлитных олигодендроцитов больше доли свободных, 2) нарастание числа сателлитных и свободных олигодендроцитов от II слоя к VI различно (таблица).

То же показано определением процентного содержания олигодендроцитов в полях *Itsp* и *peVp* (таблица).

Сравнением полученных данных установлено, что оба участка коры имеют много общих черт: например, увеличение числа олигодендроцитов и нейронов с олигосателлитами от II слоя к VI слою коры, а также численное превосходство сателлитных олигодендроцитов над свободными. Помимо общих черт, каждое из этих полей характеризуется и своими, местными, особенностями, которые особо интересны, так как они определяют регионарную специфичность количественных отношений в исследуемых полях.

Установленные различия заключаются в следующем: поле *peVp*, по сравнению с *Itsp*, более густоклеточно, так как в нем в 1,05 раза больше нейронов и в 1,21 раза больше олигодендроцитов, и, соответственно этому, олигодендроглиа-нейрональный индекс в поле *peVp* выше, чем в *Itsp* (0,63 — в *peVp* и 0,54 — в *Itsp*).

Нарастание числа сателлитных олигодендроцитов, а также числа нейронов с олигосателлитами по направлению от II слоя к VI в *peVp* тоже больше. Так, если в VI слое коры поля *peVp* в 6,96 раза больше олигосателлитных нейронов (по сравнению со II слоем коры) и в 9,51 раза сателлитных олигодендроцитов, то эти же отношения в *Itsp* представлены меньшими числами, так как нарастание числа нейронов с сателлитами в 0,68 раза, а числа сателлитных олигодендроцитов в 0,61 раза меньше, чем в *peVp* (рисунок).

Следующей особенностью, отличающей одно поле от другого, является распределение свободных олигодендроцитов, что особенно наглядно видно при расчете количества свободных олигодендроцитов на единицу клетки (нейрон с олигосателлитом). Индексы для каждого отдельного слоя обоих полей приведены в таблице.

Из таблицы видно, что индекс наружного комплекса слоев поля *peVp* (6,23) намного выше *Itsp* (2,38). Из этого следует, что в наружном комплексе слоев *Itsp* на каждый нейрон с сателлитом приходится в 0,38 раза меньше свободных олигодендроцитов, чем в том же комплексе слоев поля *peVp*.

Общим для обоих полей с точки зрения распределения свободных олигодендроцитов является:

- индекса  
341033331  
30331101033
- 1) постепенное уменьшение величины глио-нейронального индекса от II к V слою коры;
  - 2) высокий индекс для II слоя в наружном комплексе слоев;
  - 3) наибольший индекс для V слоя в нижнем комплексе слоев.

Согласно литературным данным [9, 19, 20], V и II слои коры содержат короткоаксонные нейроны, проецирующие ипсилатерально в ближайшие поля. Короткие же аксоны имеют малый диаметр и слабо миелинизированы, принадлежат клеткам малого размера. Руководствуясь этим правилом, из наружного комплекса слоев можно выделить II слой, содержащий мелкие клетки, а из внутреннего комплекса — V слой, как имеющий клетки малого (по сравнению с другими полями) размера. По нашим подсчетам именно в этих слоях содержится большее число свободных олигодендроцитов (при расчете на каждый отдельный нейрон).

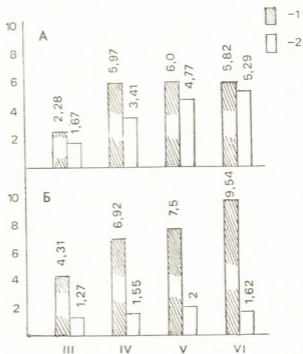


Рисунок. Нарастание числа олигодендроцитов в слоях коры по сравнению со II слоем, условно принятым за 1: А — поле HpP; Б — поле reVp; 1 — сателлитные олигодендроциты; 2 — свободные олигодендроциты

Имеют ли место функционально зависимые взаимоотношения между свободными олигодендроцитами и короткоаксонными нейронами? Изменчивы ли они в этих слоях коры? Какова динамика количественных взаимоотношений?

Все эти вопросы требуют экспериментального разрешения — исследования реакций олигодендроцитов при различных функциональных состояниях мозга.

На основании данных, приведенных выше, можно лишь заключить, что в полях, близких с функциональной точки зрения, глио-нейрональные отношения во многом схожи. В обоих полях наблюдается увеличение количества олигодендроцитов и нейронов с олигосателлитами от II слоя к VI слою коры, а также численное превосходство сателлитных





олигодендронитов над свободными. Эти особенности глионейрональных отношений (т. е. то, что морфологически отличает одну кору от другой) дают возможность предположить, что они отражают регионарную специализацию этих областей, и, как следствие, их функциональную специфичность.

ЛИТЕРАТУРА

1. Анохин П. К. Биология и нейрофизиология условного рефлекса, «Медицина», М., 1968.
2. Милохин А. А., Решетников С. С. Труды Ленинградского общества естествоиспытателей, 81, 1, 1972, 46—50.
3. Певзнер Л. З. Успехи совр. биол., 68, 3, 240—260, 1969.
4. Ройтбак А. И. В сб.: Интегративная деятельность нервной системы в норме и патологии, «Медицина», М., 1968, 76—96.
5. Ройтбак А. И. В сб.: Механизмы формирования и торможения условных рефлексов, «Наука», М., 1973, 82—84.
6. Русинов В. С. В кн.: Физиология высшей нервной деятельности, ч. 1, «Наука», М., 1970, 355—429.
7. Шелихов В. И., Дергачев В. В., Полетаев А. Б., Наумова Т. С. Успехи физиол. наук, 6, 3, 90—109, 1975.
8. Ashby W. R. General Systems, 3, 1, 1—6, 1958.
9. Clark Le Gros W. E. Brain, 55, 3, 406—469, 1932.
10. Galambos K. Proc. Nat. Acad. Sci. USA, 47, 1, 129—136, 1961.
11. Galambos K. Psychiatr. Res., 8, 3—4, 219—224, 1971.
12. Hyden H. Nature, 184, 468, 433—435, 1959.
13. Hyden H. In: Biochemistry of the Central Nervous System, Pergamon Press, London-N.Y.-Paris-Los Angeles, 1959, 64—89.
14. Hyden H., Pigon A. J. Neurochem., 6, 1, 57—72, 1960.
15. Hyden X., Mc Ewen B. Proc. Nat. Acad. Sci. USA., 55, 2, 354—358, 1966.
16. Moore B. W. Biochem. Biophys. Res. Commun., 19, 6, 739—744, 1965.
17. Pribram K. Ann. Rev. Psychol., 11, 1, 1—40, 1960.
18. Rosenzweig M. R. In: Biology of Memory, Acad. Press, N.Y.-London, 1970, 69—85.
19. Sanides S. F., Hoffman J. J. Hirnforsch., 11, H. 1/2, 73—104, 1969.
20. Yohes E. G., Wise S. P. J. Comp. Neurol., 175, 4, 391—438, 1977.

16579

კატის სუპრასილვიური ხვეულის ასოციაციურ და ინტეგრაციულ ქერქში ოლიგოდენდროციტების განაწილების საკითხისათვის (რაოდენობრივი მონაცემები)

მ. უფარაძე, ნ. კოსტინაძე

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

რეზიუმე

შესწავლილ იქნა ოლიგოდენდროციტების განაწილება კატის ასოციაციური ქერქის სუპრასილვიური ხვეულის ორ მეზობელ ველში (peVp და Itsp), პალოციანინით შეღებილ 15 მკმ სისქის ანათლუმზე. ოლიგოდენდროციტები პირობითად დავყავით თავისუფალ და სატელიტურად. გლია-ნეირონული ინ-

მ. უფარაძის სსრ სსრ  
სა. სსრ  
სსრ



დექსი გამოგვეყავდა როგორც სატელიტური, ასევე თავისუფალი ოლიგოდენდროციტებისთვის ორივე ველის ყოველ შრეში. მიღებულმა მონაცემებმა გვანახა ორ უბანს შორის შემდეგი მსგავსებანი:

1) ოლიგოდენდროციტებისა და ისეთი ნეირონების რიცხვის ზრდა, რომელთა სატელიტები ოლიგოდენდროციტებით არის წარმოდგენილი ქერქის II შრიდან VI შრემდე.

2) სატელიტური ოლიგოდენდროციტების რაოდენობის სიქარბე თავისუფალ ოლიგოდენდროციტებთან შედარებით.

ამ მეზობელ ველებს შორის აღმოჩნდა შემდეგი განსხვავებანი:

1) ველი peVp უფრო მდიდარია უჯრედებით, ვიდრე ველი Itsp.

2) ველ peVp-ში მეტია თავისუფალი ოლიგოდენდროციტები, ვიდრე Itsp-ში.

3) სატელიტური ოლიგოდენდროციტების რაოდენობის მატება და აგრეთვე მატება ნეირონებისა სატელიტური ოლიგოდენდროციტების II შრიდან VI-სკენ მეტია ველში peVp, ვიდრე ველში Itsp.

აქედან შეიძლება დავასკვნათ, რომ კატის ასოციაციური ქერქის ფუნქციურად ალბათ მსგავს ორ მეზობელ უბანში გლია-ნეირონული ურთიერთობა განსხვავებულია.

ON THE DISTRIBUTION OF OLIGODENDROCYTES IN THE ASSOCIATION AND INTEGRATIVE CORTEX OF SUPRASYLVIAN GYRUS OF THE CAT (Quantitative Data)

M. R. KUPARADZE, N. A. KOSTENKO

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

S u m m a r y

The distribution of oligodendrocytes in two adjacent areas of the association cortex of suprasylvian gyrus of the cat (Itsp and peVp according to Sanides) was studied in the sections of 15 mcm thick stained with gallocyanin by the method of Einarson. Oligodendrocytes were tentatively divided into the satellite and free ones. Glio-neuronal index was determined separately for oligodendrocytes in each layer of both areas. Analysis of the data obtained shows that the both areas have similarities.

1) Increase in the number of oligodendrocytes and neurons having the former in the content of satellites from layer II toward layer VI.

2) Quantitative prevalence of satellite oligodendrocytes over the free ones.

Differences were also found in the two areas.

1) Area peVp is more densely packed than Itsp.

2) In area peVp the number of free oligodendrocytes is more than in Itsp.

3) Increase of the number of satellite oligodendrocytes as well as that of neurons with oligosatellites oriented from layer II to layer VI in peVp is greater than in Itsp.

It is concluded that in two adjacent areas of the association cortex of the cat, which seem to be similar from the functional point of view, glio-neuronal relations are different.

УДК 576.312.3:547.963

ЦИТОЛОГИЯ

## ДЕЙСТВИЕ АКТИНОМИЦИНА Д НА МОРФОЛОГИЮ И ТРАНСКРИПЦИЮ КЛЕТОК СЕМЕННЫХ ФолЛИКУЛОВ *SCHISTOCERCA GREGARIA*

Г. И. Бахтадзе

Институт зоологии АН ГССР, Тбилиси

Поступила в редакцию 12.1.1979

Методом автордиографии показано, что актиномицин Д в концентрации 1 мкг/мл уже через 1 ч после начала воздействия практически полностью подавляет включение <sup>3</sup>H-уридина *in vitro* в ядра разной плоидности клеток стенки семенных фолликулов *Schistocerca gregaria* и пахнему мейоза. При этом наблюдается характерное изменение структуры хромосом этих клеток. Добавление в среду актиномицина Д в концентрациях 0,08 мкг/мл и, особенно, 0,17 мкг/мл вызывает больший ингибиторный эффект в ядрах клеток стенки семенных фолликулов и меньший — в пахнеме мейоза.

В последние годы накопился значительный материал относительно избирательного выключения синтеза РНК актиномицином Д. В ряде работ, выполненных в основном на культуре клеток, было показано, что концентрация актиномицина Д в интервале 0,04—0,10 мкг/мл подавляет синтез рибосомной РНК (рРНК), а более высокие концентрации антибиотика — синтез суммарной РНК [1, 11, 14, 15, 19, 26, 27, 30]. Однако по данным других авторов [12, 18, 29] синтез рРНК включается лишь после воздействия более высокими концентрациями актиномицина Д на культуру клеток (0,15—0,20 мкг/мл).

В настоящей работе предпринята попытка оценить действие актиномицина Д в концентрациях, подавляющих как синтез рРНК, так и синтез суммарной РНК в культуре клеток, в условиях инкубации изолированных семенных фолликулов *Sch. gregaria* в среде, содержащей антибиотик. В стенке семенных фолликулов саранчовых локализована популяция клеток, плоидность которых колеблется от  $n$  до  $16n$  [5, 8, 9, 13]. В период терминальной дифференцировки ядра этих клеток представлены в виде отдельных, в различной степени спирализованных хромосом, с характерной для стадий классического эндомитоза структурой [16, 17, 20, 21, 24, 25]. Однако автордиографическое и цитофотометрическое исследование динамики развития и функционирования данной клеточной популяции в семенных фолликулах саранчовых показало, что собственно эндомитотический цикл полиплоидизации в них отсутствует и специфическое строение хромосом следует оценить как рабочее, интерфазное состояние [2, 3, 5, 7]. В связи с этим изучение функциональной организации хромосом этих клеток, несущих, очевидно, трофическую функцию в семенном фолликуле [2, 5], имеет большое значение. Исследованию этого вопроса и посвящена настоящая работа.

## МАТЕРИАЛ И МЕТОДИКА

Объектом исследования служили семенники лабораторной популяции взрослых самцов (желтое имаго) *Schistocerca gregaria* Forskal (сем. *Acrididae*). Изолированные семенники помещали в среду Хенкса, содержащую актиномицин Д (*Serva, Heidelberg*) в концентрациях 0,08, 0,17 и 1,00  $\mu\text{кг/мл}$ , на 15, 30 и 60 мин. Затем семенники переносили на 20 мин в среду, содержащую  $^3\text{H}$ -уридин (концентрация 100  $\mu\text{кКи/мл}$ , удельная активность 14,6  $\text{Ки/моль}$ ). Параллельно проводилось контрольное включение изотопа в семенные фолликулы без предварительной инкубации в среде с актиномицином Д. Фиксацию проводили в

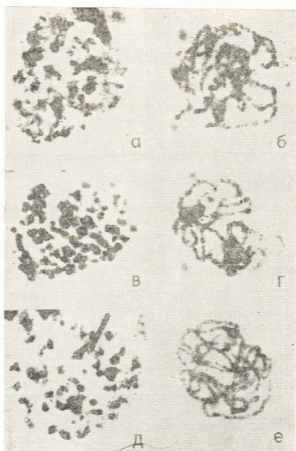


Рис. 1. Включение  $^3\text{H}$ -уридина в ядра клеток стенки семенных фолликулов и пахиному мейоза через 1 ч после воздействия разными концентрациями актиномицина Д: а, в, д — ядра клеток стенки семенных фолликулов; б, г, е — пахинома; а, б — концентрация актиномицина Д — 0,08  $\mu\text{кг/мл}$ ; в, г — концентрация актиномицина Д — 0,17  $\mu\text{кг/мл}$ ; д, е — концентрация актиномицина Д — 1  $\mu\text{кг/мл}$ . Окраска ацетоорсеином.  $\times 800$

смеси этанола с уксусной кислотой (3:1) в течение 30 мин, окрашивали 4%-ным ацетоорсеином и изготовляли давленные препараты с замораживанием в жидком азоте. Для автордиографии использовали жидкую эмульсию типа М (НИИХИМФОТОПРОЕКТ), экспозиция которой

составляла около 4 недель. На полученных автографах подсчитывали число зерен серебра над хромосомами диплоидных клеток стенки семенных фолликулов и пахинеи мейоза. Полученные цифровые данные обрабатывали статистически [10].

## РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Результаты действия актиномицина Д на транскрипцию клеток семенных фолликулов представлены в таблице, из которой следует, что темп падения синтеза РНК в ядрах клеток стенки семенных фолликулов при воздействии актиномицином Д в концентрациях 0,08 и 0,17  $\mu\text{кг/мл}$  намного выше, чем в пахитенных хромосомах. Так например, через 1 ч после начала инкубации семенников в среде с концентрацией антибиотика 0,08  $\mu\text{кг/мл}$  синтез РНК в клетках стенки фолликула подавляется по сравнению с контролем на 75%, а в пахинеи — на 26% (рис 1 а, б). Эффект, достигаемый при концентрации ингибитора 0,17  $\mu\text{кг/мл}$ , составляет соответственно 82% и 50% (рис. 1 в, г). Подобное действие не наблюдается при кратковременной инкубации семенников в среде с актиномицином Д. Очевидно, в условиях инкубирования семенных фолликулов *in vitro* в среде с антибиотиком максимальное ингибирование достигается в течение 1 ч после

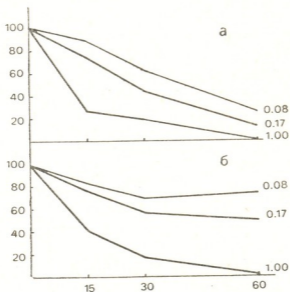


Рис. 2. Изменение числа зерен серебра над ядрами клеток стенки семенных фолликулов и пахинеи мейоза в зависимости от времени воздействия актиномицином Д и его концентрации: а—клетки стенки семенных фолликулов; б—пахинея. По оси абсцисс — число зерен серебра в процентах; по оси ординат — время воздействия актиномицином Д

начала инкубации [4]. Высокая концентрация актиномицина Д (1,00  $\mu\text{кг/мл}$ ) уже через 15 мин после начала инкубации почти на 73% подавляет включение  $^3\text{H}$ -уридина в ядра клеток стенки семенных фолликулов и на 58% — в пахинею мейоза (рис. 1 д, е), а через 1 ч полностью подавляет синтез РНК. Графическое выражение действия антибиотика на транскрипцию клеток семенных фолликулов представлено на рис. 2.



Таким образом, анализируя настоящие результаты, можно прийти к заключению, что хромосомы клеток стенки семенных фолликулов более чувствительны к действию актиномицина Д, нежели пахитенные. Подобная закономерность отражается и на изменении морфологии хромосом этих двух клеточных типов, наблюдаемом при воздействии высокой концентрации актиномицина Д. Известно, что этот антибиотик, связываясь с ДНК, вызывает уплотнение и втягивание боковых петель хромосом типа ламповых щеток [22, 23, 28] и полностью ингибирует на них синтез РНК. В последние годы хромосомы типа ламповых щеток обнаружены в ооцитах и сперматоцитах всех исследованных в этом отношении видов животных [6], в частности в сперматоцитах профазы I мейоза у саранчовых [31]. Таким образом, изменение структуры хромосом мейоцитов после воздействия актиномицином

Таблица

Включение  $^3\text{H}$ -угридина в ядра диплоидных клеток стенки семенных фолликулов и пахитенные хромосомы в зависимости от продолжительности инкубации с актиномицином Д в разных концентрациях

Концентрация актиномицина Д (мкг/мл)	Среднее число зерен серебра над хромосомами диплоидных клеток стенки семенных фолликулов через разное время (в мин) после начала инкубации с актиномицином Д					
	15	%	30	%	60	%
0,00			60,2±8,2	100		
0,08	53,2±7,9	88,4	38,3±5,6	63,6	15,1±3,2	25,0
0,17	44,8±6,7	74,4	27,3±5,2	45,3	7,2±1,9	11,9
1,00	16,4±4,1	27,2	11,6±2,1	19,3	0,00	0,0

Концентрация актиномицина Д (мкг/мл)	Среднее число зерен серебра над пахитенными хромосомами мейоцитов через разное время (в мин) после начала инкубации с актиномицином Д					
	15	%	30	%	60	%
0,00			44,2±7,5	100		
0,08	36,9±5,6	83,5	30,6±6,7	69,2	33,9±7,5	74,4
0,17	34,1±5,7	77,1	24,8±3,2	56,1	21,8±5,3	49,3
1,00	18,5±4,2	41,8	7,6±1,9	17,2	0,00	0,0

Д — явление закономерное. Однакостораживает факт, что действие антибиотика в этом отношении более эффективно на популяцию полиплоидных клеток стенки семенных фолликулов. Это создает настоятельную необходимость изучения ультраструктуры хромосом последних.

#### ЛИТЕРАТУРА

1. Абуладзе М. К. Цитология, 17, 797—802, 1975.
2. Бахтадзе Г. И. Авторадиографическое изучение редупликации ДНК и транскрипции при дифференциации клеток семенных фолликулов *Schistocerca gregaria*. Автореф. канд. дисс., Тбилиси, 1975.

3. Бахтадзе Г. И. Изв. АН ГССР, сер. биол., 2, 4, 310—315, 1976.
4. Викулова В. К., Константинова Л. М. Онтогенез, 8, 166—169, 1977.
5. Истомина А. Г. Особенности эндомиоза у саранчовых. Автореф. канд. дисс., Новосибирск, 1976.
6. Кикнадзе И. И. В кн.: Цитология и генетика мейоза, «Наука», М., 1975, 96—112.
7. Кикнадзе И. И., Бахтадзе Г. И., Истомина А. Г. Цитология, 17, 509—517, 1975.
8. Кикнадзе И. И., Истомина А. Г. Цитология, 14, 1519—1528, 1972.
9. Кикнадзе И. И., Тутурова К. Ф. Цитология, 12, 844—853, 1970.
10. Лакин Г. Ф. Биометрия, «Мысль», М., 1973.
11. Макарова Г. Ф., Епифанова О. И. Цитология, 16, 569—674, 1974.
12. Поспелова Т. В. Цитология, 17, 660—666, 1975.
13. Прокофьева-Бельговская А. А. В сб.: Вопросы цитологии и общей физиологии, «Наука», М.—Л., 1960, 215—253.
14. Семешин В. Ф. Некоторые закономерности процессов формирования и слияния ядрышек. Автореф. канд. дисс., Новосибирск, 1975.
15. Смоленская И. Н., Мазнина Т. П. Цитология, 13, 1347—1357, 1971.
16. Соколов И. И. Цитология, 9, 152—161, 1967а.
17. Соколов И. И. Цитология, 9, 257—264, 1967 б.
18. Cooper H. L. In: Biochemistry of cell division, Illinois, 1969, 91—112.
19. Donnelly G. M., Siskin J. E. Exptl. Cell Res., 46, 93—105, 1967.
20. Geitler L. Chromosoma, 1, 1—23, 1939.
21. Geitler L. Protoplasmatologia, 6, 1—89, 1953.
22. Hurwitz J., Furth J. J., Malamy M., Alexander M. Proc. Natl Acad. Sci., 48, 1222—1230, 1962.
23. Izawa M., Allfrey V. G., Mirsky A. E. Proc. Natl Acad. Sci., 49, 544—551, 1963.
24. Lipp C. Chromosoma, 5, 454—485, 1953.
25. Nur U. Chromosoma, 24, 202—209, 1968.
26. Perry R. P. Proc. Natl Acad. Sci., 48, 2179—2186, 1962.
27. Perry R. P. Exptl. Cell Res., 29, 400—406, 1963.
28. Reich E., Franklin R. M., Shatkin A. J., Tatum E. L. Science, 134, 556—557, 1961.
29. Rickinson A. B., Dendy P. P. Experientia, 25, 1251—1253, 1969.
30. Roberts W. K., Newman J. F. J. mol. biol., 20, 63—73, 1966.
31. Watkins M. S. Exptl. Cell Res., 36, 15—18, 1964.

აქტინომიცინი დ-ს მოქმედება *SCHISTOCERCA GREGARIA*-ს  
სათესლე ფოლიკულების უჯრედების მორფოლოგიასა და  
ტრანსკრიფციასზე

ბ. ბახტაძე

საქართველოს სსრ მეცნიერებათა აკადემიის  
ზოოლოგიის ინსტიტუტი, თბილისი

რ ე ზ ი მ ე

ავტორადიოგრაფიის მეთოდის გამოყენებით გამოირკვა, რომ მაღალი კონცენტრაციის აქტინომიციინი დ (1 მკგ/მლ) მოქმედების დაწყებიდან უკვე 1 საათის შემდეგ სრულიად აკავებს <sup>3</sup>H-ურაიდინის ჩართვას *in vitro* სათესლე ფოლიკულების პოლიპლოიდური უჯრედების ბირთვებში და მეიოზის პაქინე-მაში. პარალელურად იცვლება ქრომოსომთა სტრუქტურა ორივე ტიპის უჯრედ-



დებში. მცირე კონცენტრაციის აქტინომიცინი D (0,08 და, განსაკუთრებით, 0,17 მკგ/მლ) უფრო მეტ შემკავებელ ეფექტს იწვევს სათესლე ფოლიკულების კედლის უკრედების ბირთვში და უფრო ნაკლებს — მეიოზის პაქინემაში.

**ACTION OF ACTINOMYCIN D ON THE TRANSCRIPTION AND MORPHOLOGY OF *SCHISTOCERCA GREGARIA* TESTICULAR FOLLICLE CELLS**

G. I. BAKHTADZE

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

**S u m m a r y**

By autoradiographic method it was shown that actinomycin D in concentration of 1 mcg/ml completely suppressed the incorporation of <sup>3</sup>H-uridine in vitro in *Schistocerca gregaria* testicular follicle wall cell polyploid nuclei already an hour after the onset of the exposure. Simultaneously, the characteristic change of chromosomal structure of these cells is observed. Actinomycin D in the concentration of 0.08 and 0.17 mcg/ml brings about more inhibiting effect in follicle wall polyploid cells than in pachytene of meiosis.



УДК 577.159

БИОХИМИЯ

## ОБ ЭФФЕКТАХ АНАЛОГОВ ЦИКЛИЧЕСКОГО АДЕНОЗИНМОНОФOSФАТА НА ФЕРМЕНТЫ, СВЯЗАННЫЕ С ЕГО ОБМЕНОМ В НЕРВНОЙ КЛЕТКЕ

Т. Я. Фрайкина, Д. Г. Микеладзе

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

Поступила в редакцию 31.1.1980

Изучено участие циклической АМФ и ферментов, связанных с ее обменом, в функциональной активности центральной нервной системы. С этой целью были использованы аналоги 3':5'-АМФ: 8-(хлорацетиламиноэтил)амино-3':5'-АМФ (1), 1-(хлорацетиламиноэтил)аминоэтокси-3':5'-АМФ (2), дибутирил-3':5'-АМФ. Об эффектах воздействия агентов судили по данным условно-рефлекторной памяти животных. Показано, что аналоги 1 и 2 ингибировали фосфодиэстеразу в надосадочной и в грубой митохондриальной фракциях, в то время как дибутирил-3':5'-АМФ активировал ее. Все изученные соединения, за исключением аналога 1, активировали протеинкиназу. Аналог 1, ингибируя протеинкиназную активность как в ядрах, так и в цитозоле, вызывал ухудшение обучаемости животных.

Таким образом, торможение протеинкиназной реакции сопровождалось снижением функциональной активности мозга. Полученные данные позволяют допустить, что протеинкиназные реакции могут играть определенную роль в процессе обучения.

Циклические нуклеотиды играют важную роль второго посредника между действием гормонов и нейромедиаторов и ответной реакцией клетки-мишени [18]. Как выясняется, их эффекты опосредуются фосфорилированием белков-модуляторов, модифицирующих активность генетического аппарата, мембран и т. д. [10].

Перед нами была поставлена задача — изучить участие циклической АМФ и ферментов, связанных с ее обменом, в функциональной активности центральной нервной системы. Для этой цели были использованы структурные аналоги 3':5'-АМФ, которые связываются с активными и регуляторными центрами ферментов, катализирующих превращения этого соединения, и избирательно тормозят их активность. Об эффектах воздействия агентов судили по данным условно-рефлекторной памяти животных.

### МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Опыты проводились на растущих белых крысах весом 100—150 г. Подопытным животным интракраниально вводились испытуемые вещества в количестве 5 и 10 мкг. Инъекция проводилась под эфирным наркозом. Через 30 мин крыса подвергалась физиологическому тесту на реакцию пассивного избегания [14]. После обучения животное быстро декапитировалось и из мозга выделялись три фракции: ядра, надосадочная и грубая митохондриальная фракции [7].

В ядрах и в надосадочной фракциях определялась активность протеинкиназы (по методу Чанга и др. [6]) и 3':5'-АМФ-связывающая активность (по методу, описанному Ткачуком и др. [3]); в надосадочной и грубой митохондриальной фракциях (по методу Гнеджи и др. [8]) — активность фосфодиэстеразы. Активность аденилциклазы определялась в грубой митохондриальной фракции по методу, описанному Ткачуком и др. [2]. Содержание белка в пробах измеряли по методу Лоури [13].

В работе были использованы структурные аналоги 3':5'-АМФ: 8-(хлорацетиламиноэтил)амино-3':5'-АМФ (1), 1-(хлорацетиламиноэтил)-аминоэтоксн-3':5'-АМФ (2), дибутирил-3':5'-АМФ, а также трентал — высокоспецифический ингибитор фосфодиэстеразы\*.

Нами были использованы также 3':5'-АМФ (Sigma),  $^{14}\text{C}$ -АТФ (UVVVR, Szechoslovakia),  $\gamma$ - $^{32}\text{P}$ -АТФ и цикло- $^3\text{H}$ -АМФ (Amersham).

## РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

### Эффект структурных аналогов 3':5'-АМФ на протеинкиназную активность

Фосфорилирование специфических белковых субстратов, осуществляемое 3':5'-АМФ-зависимой протеинкиназой, является основным механизмом, опосредующим и осуществляющим эффекты циклической АМФ.

Таблица 1

Изменение активности протеинкиназы в ядрах и в надосадочной фракциях мозга крыс после интракраниального введения структурных аналогов 3':5'-АМФ

Вводимые вещества 10 мкс	Активность протеинкиназы			
	ЯДРА -3':5'-АМФ +3':5'-АМФ, п.моль/мг/мин		Надосадочная фракция -3':5'-АМФ +3':5'-АМФ, п.моль/мг/мин	
Контроль	58±6	77±6	103±16	179±17
Дибутирил-3':5'-АМФ	399±16	528±25	1115±51	1732±51
8-(хлорацетиламиноэтил)амино-3':5'-АМФ	48±5	49±6	43±5	53±7
1-(хлорацетиламиноэтил)аминоэтоксн-3':5'-АМФ	322±22	619±27	988±43	1311±52
Трентал	359±15	460±20	634±30	1028±42

Примечание: во всех таблицах представлены средние данные 7 опытов ( $M \pm m$ )

В настоящее время предполагается, что эффектор (гормон или нейротрансмиттер), вызывая увеличение продукции 3':5'-АМФ и диссоциацию хололизима мембранной протеинкиназы, способствует транслокации его мобильной каталитической субъединицы к растворимым или ядерным субстратам [11]. Мигрирующая в ядро каталитическая

\* Препараты были предоставлены нам проф. Е. С. Севериным (Институт молекулярной биологии АН СССР).

субъединица протеникиназы фосфорилирует регуляторные ядерные белки и изменяет синтез РНК [5]. Транслокация протеникиназы в цитоплазму в ядро является критической в регуляции генной экспрессии.

Таблица 2

Изменение 3':5'-АМФ-связывающей активности в ядрах и надосадочной фракции мозга крыс после интракраниального введения структурных аналогов 3':5'-АМФ

Вводимые вещества, 10 мкг	3':5'-АМФ-связывающая активность			
	ядра, пмоль/мг белка	%	надосадочная фракция, пмоль/мг белка	%
Контроль	1,04±0,16	100	0,73±0,10	100
Дибутрил-3':5'-АМФ	2,17±0,19	208	1,91±0,18	261
8-(хлорацетиламиноэтил)- амино-3':5'-АМФ	0,38±0,03	36	0,10±0,01	13
1-(хлорацетиламиноэтил)- аминоэтокси-3':5'-АМФ	0,28±0,02	26	0,38±0,02	52
Трентал	0,40±0,01	38	0,72±0,01	98

Активность протеникиназы после обучения животных пассивному избеганию определяли как в ядерной, так и в растворимой фракциях. Как видно из табл. 1, активность фермента значительно возросла в обоих субклеточных образованиях после введения подопытным животным дибутрил-3':5'-АМФ. Подобная картина наблюдалась и после введения животным аналога 2 и трентала. Введение же аналога 1 не вызывало активирования протеникиназы. Наоборот, после инъекции этого вещества наблюдалось ингибирование обеих протеникиназ (табл. 1). Можно предположить, что повышение базальной и 3':5'-АМФ-стимулируемой активности в первых трех случаях обусловлено освобождением фермента из мембранных структур и его миграцией в цитозоль и ядро. Этот процесс может осуществляться в результате повышения внутриклеточной концентрации 3':5'-АМФ. Что же касается аналога 1, то его эффект вызван, видимо, тем, что, являясь необратимым ингибитором 3':5'-АМФ-зависимой протеникиназы [1], этот нуклеотид, связываясь с холоэнзимом, препятствует его диссоциации, а следовательно, и транслокации. Этим обусловлено, вероятно, сильное понижение активности протеникиназы в цитозоле и в ядрах. Аналог 1 ингибирует также и 3':5'-АМФ-связывающую активность ядер (табл. 2). Понижение включения цикло-[<sup>3</sup>H]-АМФ в ядерной фракции происходит, по-видимому, также и после введения животным аналога 2 и трентала. В растворимой фракции такое резкое ингибирование происходит лишь при введении аналога 1 и слабо выражено в вариантах опытов с аналогом 2 и тренталом. Однако остается невыясненным вопрос, почему в вариантах опытов с тренталом и с аналогом 2 происходит ингибирование 3':5'-АМФ-связывающей активности, причем в ядрах в более высокой степени, чем в цитозоле. Не исключено, что в ядрах ингибированию подвергается специфический для этой фракции 3':5'-АМФ-связывающий белок. Вероятно, этот белок является либо регуляторной субъединицей протеникиназы, транслоцирующей отдельно от холофермента, либо 3':5'-АМФ-связывающим белком, не имею-



щим отношения к протеинкиназе. Последний вывод делается на основании того факта, что при сильном ингибировании 3':5'-АМФ-связывающей активности в опытах с аналогом 2 и тренталом протеинкиназная активность остается довольно высокой (табл. 1).

Суммируя приведенные выше данные, можно заключить, что из всех использованных нами веществ лишь аналог 1 ингибирует протеинкиназную активность как в ядрах, так и в цитозоле. Ингибируется также 3':5'-АМФ-связывающая активность ядерных белков.

### Эффект структурных аналогов 3':5'-АМФ на аденилциклазную и фосфодиэстеразную активности

Аденилциклаза и фосфодиэстераза являются ключевыми ферментами, регулирующими уровень циклической АМФ в клетках. В мозгу, как и в других тканях, фосфодиэстераза представлена в виде изоферментов, которые обнаруживаются как в мембранных фракциях клетки, так и в цитозоле. Фермент характеризуется кооперативностью и регулируется Са-связывающим белком [12].

Таблица 3

Изменение активности фосфодиэстеразы в надосадочной и грубой митохондриальной фракциях мозга крыс после интравентрикулярного введения структурных аналогов 3':5'-АМФ

Вводимые вещества, 10 мкг	Активность фосфодиэстеразы			
	грубая митохондриальная фракция, нмоль/мг белка	%	надосадочная фракция, нмоль/мг белка	%
Контроль	55±7	100	118±12	100
Дибутрил-3':5'-АМФ	748±69	1360	517±48	438
8-(хлорацетиламиноэтил)-амино-3':5'-АМФ	26±1	47	7±1	5
1 (хлорацетиламиноэтил)-аминоэтокси-3':5'-АМФ	19±2	34	27±3	22
Трентал	17±2	30	20±1	16

Из табл. 3 видно, что после введения животным дибутрил-3':5'-АМФ повышается активность как растворимой, так и связанной с мембраной фосфодиэстераз. Это легко объяснить, если учесть, что повышение внутриклеточной концентрации 3':5'-АМФ приводит к фосфорилированию Са-зависимого активатора фосфодиэстеразы и к увеличению активности этого фермента [8, 9]. По данным табл. 3 выясняется также, что фосфодиэстераза ингибируется после введения аналогов 3':5'-АМФ и трентала. Ингибирование фосфодиэстеразы также приводит к увеличению количества 3':5'-АМФ и активированию протеинкиназы. Однако, поскольку эти соединения по-разному действуют на протеинкиназу (табл. 1), их физиологический эффект должен быть различен. Именно этим и обусловлены разные терапевтические действия ингибиторов фосфодиэстеразы, широко употребляемых в медицинской практике для лечения ряда заболеваний, в том числе и психических [16].

Вторым важнейшим ферментом, регулирующим уровень 3':5'-АМФ, является аденилциклаза. Она, в основном, локализована в синаптичес-

ских образованиях нервной ткани; при ультрацентрифугировании обнаруживается в грубой митохондриальной фракции и в синаптических мембранах. Введение дибутирил-3':5'-АМФ увеличивает базальную активность аденилциклазы в 5 раз (табл. 4). Увеличение базальной активности аденилциклазы вследствие возрастания концентрации 3':5'-АМФ обусловлено, по всей видимости, увеличением протенинкиназной активности в ядрах и связанным с ним индуктивным синтезом ферментов, участвующих в синтезе нейротрансмиттеров, например тирозингидроксилазы [5]. Это приводит к увеличению уровня биогенных аминов в мозгу и, соответственно, к активации аденилциклазы [19]. По всей видимости, аналогичным образом действуют на аденилциклазу аналог 2 и трентал, которые могут увеличивать количество 3':5'-АМФ путем ингибирования фосфодиэстеразы (табл. 3), и, соответственно, повышать активность протенинкиназы (табл. 1).

Таблица 4  
Изменение активности аденилциклазы в грубой митохондриальной фракции мозга крыс после интракраниального введения структурных аналогов 3':5'-АМФ

Вводимые вещества, 10 мкг	Активность аденилциклазы	
	грубая митохондриальная фракция, нмоль/мг белка	%
Контроль	6.4 ± 0.09	100
Дибутирил-3':5'-АМФ	30.8 ± 0.41	481
8-(хлорацетиламиноэтил)-амино-3':5'-АМФ	9.2 ± 0.01	143
1-(хлорацетиламиноэтил)-аминоэтокси-3':5'-АМФ	27 ± 0.23	423
Трентал	225.3 ± 0.19	395

Что же касается аналога 1, то его действие на аденилциклазу выявляется в меньшей степени. Несмотря на то, что этот аналог является ингибитором фосфодиэстеразы и после его введения происходит накопление 3':5'-АМФ, увеличения аденилциклазной активности в этом случае не наблюдается. Причину нужно искать в ингибировании протенинкиназы (табл. 1). Не исключено, что тормозится и фосфорилирование ядерных белков и задерживается индуктивный синтез ферментов, участвующих в синтезе биогенных аминов.

### Эффект структурных аналогов 3':5'-АМФ на условно-рефлекторную память

Известно, что процесс обучения пассивному избеганию сопровождается увеличением включения радиоактивного лейцина в рибосомы [4], повышением фосфорилирования ядерных белков, экстрагируемых подкисленными органическими растворителями [15], а также фосфорилированием синаптических мембран [17]. Все это свидетельствует об усиленном синтезе белка в процессе обучения. Поэтому данный физиологический тест давал нам возможность судить о сдвиге в функциональной активности головного мозга после введения аналогов 3':5'-АМФ.

Из рис. 1 видно, что контрольные животные, которым интракраниально вводился физиологический раствор, обучались в течение 7—8 опы-

тов. Это хорошо согласуется с результатами, полученными Махасотом [14]. По нашим данным, введение дибутирил-3':5'-АМФ в гипотезу головного мозга в количестве 5 мкг незначительно влияло на процесс обучения, тогда как увеличение вводимой дозы нуклеотида до 10 мкг вызывало усиление локомоторной активности, возбуждение и агрессивность. На фоне повышенной возбудимости ухудшалась обучаемость животных.

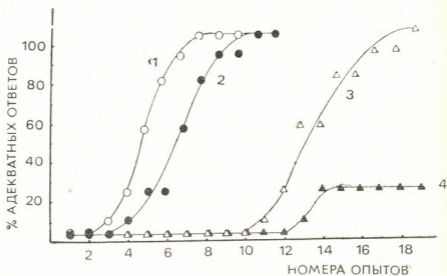


Рис. 1 Кривые обучения крыс после интракраниального введения аналогов 3':5'-АМФ (10 мкг): 1 — контроль; 2 — дибутирил-3':5'-АМФ; 3 — 1-(хлорацетиламиноэтил)аминоэтокси-3':5'-АМФ; 4 — 8-(хлорацетиламиноэтил)-амино-3':5'-АМФ

Трентал не влиял на условно-рефлекторную память животных — при введении как 5, так и 10 мкг. Действие же аналогов 3':5'-АМФ проявилось по-разному. Введение аналога 2 в количестве 5 мкг незначительно влияло на обучаемость животных. Однако они бурно реагировали на безусловный раздражитель, возбуждались и становились агрессивными. Повышалась также их локомоторная активность. Подопытные животные по этим визуальным наблюдениям напоминали крыс, обработанных дибутирил-3':5'-АМФ. Увеличение дозы вводимого вещества до 10 мкг вызывало ухудшение обучаемости.

Инъекция аналога 1, наоборот, вызывала понижение двигательной активности крыс. Животные были вялыми и слабо реагировали на раздражение. Значительно снизилась их обучаемость (рис. 1).

Таким образом, аналог 8-(хлорацетиламиноэтил)амино-3':5'-АМФ, являясь необратимым ингибитором протеинкиназы, выявил наибольший отрицательный эффект по сравнению с остальными использованными веществами. Животные практически не обучались.

Значение обнаруженных фактов заключается в том, что торможение протеинкиназной реакции сопровождается снижением функциональной активности мозга. Отсюда следует, что протеинкиназные реакции могут играть определенную роль в процессе обучения.

ЛИТЕРАТУРА

1. Гуляев Н. Н., Туницкая В. Л., Нестерова М. В., Мазурова Л. А., Муртузаев И. М., Северин Е. С. Биохимия, 42, 2071—2078, 1977.
2. Ткачук В. А., Балденков Г. Н. Биохимия, 43, 1097—1109, 1978.
3. Ткачук В. А., Ритов В. Б., Северин С. Е. Биохимия, 41, 1704—1711, 1976.
4. Coleman M. S., Wilson J. E., Glassman E. Nature, 229, 54—55, 1971.
5. Costa E., Kurosawa A., Guidotti A. Proc. Natl Acad. Sci. USA, 73, 1058—1062, 1976.
6. De Maw Chung, Hollenbeck R. A., Costa E. J. Biol. Chem., 252, 8365—8373, 1977.
7. De Robertis E., De Lores Arnais G. R., Alberici M., Butcher R. W., Sutherland E. W. J. Biol. Chem., 242, 3487—3493, 1967.
8. Gnegy M. E., Nathanson I. A., Uzunov P. Biochim. Biophys. Acta, 497, 75—85, 1977.
9. Gnegy M. E., Costa E., Uzunov P. Proc. Natl Sci. USA, 73, 352—355, 1976.
10. Krebs E. G., Current Topics in Cell Regulation, 5, 99—133, 1972.
11. Lincoln T. M., Corbin J. D. J. Cycl. Nucl. Res., 4, 3—14, 1978.
12. Liu Y. P., Cheung W. Y. J. Biol. Chem., 251, 4193—4198, 1976.
13. Lowry O. H., Rosenbrough N. J., Farr A. L., Randall R. S. J. Biol. Chem., 193, 265—275, 1951.
14. Machlus B. J., Wilson J. E., Glassman E. Behav. Biol., 10, 43—62, 1974.
15. Machlus B. J., Wilson J. E., Glassman E. Behav. Biol., 10, 63—73, 1974.
16. Miller J. P. In: Cyclic 3'5' Nucleotides, J. Wiley and Sons, London, 1977, 77—106.
17. Perumal R., Gispén W. H., Glassman E., Wilson J. E. Behav. Biol., 21, 341—357, 1977.
18. Robison G. A., Butcher R. W., Sutherland E. W. In: Cyclic AMP, Academic Press, N. Y., 1971, 77—106.
19. Thoenen H., Otten U. In: Essays in Neurochemistry and Neuropharmacology, J. Wiley and Sons, London, 1977, 1, 73—101.

ნერვულ უჯრედში ციკლიური ადენოზინმონოფოსფატის  
ანალოგების გავლენა ფერმენტებზე, რომლებიც მონაწილეობას  
იღებენ მის ცვლაში

ბ. ფრაიკინა, ზ. შიქიალაძე

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

რ ე ზ ი უ მ ე

შესწავლილ იქნა ციკლიური ადენოზინმონოფოსფატის (აშფ) ანალოგების გავლენა მის მეტაბოლიზმში მონაწილე ფერმენტების აქტივობაზე. გამოიყენეთ შემდეგი ანალოგები: 8-(ქლორაცეტილამინოეთილ)ამინო 3':5'-აშფ (1), 1-(ქლორაცეტილამინოეთილ)ამინოეტოქსიპ:5'-აშფ (2), და დიბუთირილ 3':5'-აშფ. იმის გასარკვევად, თუ როგორია ეს გავლენა, შევისწავლიდით აღნიშნული ნაერთების ზემოქმედებას ვირთაგეების პირობითრეფლექსურ მეხსიერებაზე. აღმოჩნდა, რომ ანალოგები 1 და 2 აკავებენ ფოსფორილტერაზულ

აქტივობას, ხოლო დიბუთირილ 3':5'-ამფ, პირიქით, აძლიერებს. ანალოგი 2 დიბუთირილ 3':5'-ამფ აგრეთვე ააქტივებენ პროტეინკინაზას ბირთვეში და უხეშ მიტოქონდრიების ფრაქციაში, ხოლო ანალოგი 1 აკავებს ამ ფერმენტის აქტივობას. პროტეინკინაზის აქტივობის შეკავებასთან ერთად ქვეითდება პირობითრეფლექსური მეხსიერება. მიღებული მონაცემების საფუძველზე შეიძლება ითქვას, რომ პროტეინკინაზული რეაქციების ნორმალური მიმდინარეობა დასწავლის პროცესის აუცილებელ პირობას წარმოადგენს.

## THE EFFECTS OF THE CYCLIC AMP ANALOGUES ON THE ENZYMES, INVOLVED IN ITS METABOLISM IN THE NERVOUS CELLS

T. Ya. FRAIKINA, D. G. MIKELADZE

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

### S u m m a r y

The participation of cyclic AMP and enzymes, concerned with its metabolism, in the functional activity of brain have been investigated. To this end, the following analogues of cyclic AMP were used: 8-(chloroacetylaminioethyl) amino cyclic AMP (I), 1-(chloroacetylaminioethyl) aminoethoxy cyclic AMP (II), dibutyryl cyclic AMP. The foot-shock avoidance experience and activity of enzymes (protein kinase, phosphodiesterase, adenylyl cyclase) have been studied after intracranial injections of cyclic AMP analogues. Analogues I and II were found to inhibit the phosphodiesterase activity in cytosol and particulate fractions, while dibutyryl cyclic AMP activated phosphodiesterase. All compounds, except analogue I, activated the protein kinase. Inhibition of the protein kinase by analogue I in nuclei and cytosol was accompanied by the decreasing of the brain functional activity resulting in the impairment of learning. On the basis of these results it is concluded that protein kinase reaction must play an important role in learning.



УДК 582.997

БОТАНИКА

## ФЛОРА УЩЕЛЬЯ МЕСТИА-ЧАЛА В ВЕРХНЕЙ СВАНЕТИИ

Б. Г. Зурбиани

Институт ботаники АН ГССР, Тбилиси,

Поступила в редакцию 24.3.1978

Приводится систематическая структура флоры ущелья Мestia-чала, рассмотрены отдельные систематические группы по вертикальной поясности, дается сравнение флористического состава восточной и западной котловин Верхней Сванетии. Определенное внимание уделяется реликтности, эндемизму и вопросам истории флоры.

В 1968—1971 гг. мы изучили флору ущелья Мestia-чала (Верхняя Сванетия), ее состав и закономерность распространения по вертикальной поясности.

Ущелье расположено в центральной части восточной котловины Сванетского флористического округа, ее северная часть граничит с водоразделом Главного Кавказского хребта. Флора восточной котловины резко отличается от флоры западной котловины. Флора западной котловины более богата колхидскими элементами (*Ilex colchica* Pojark., *Rhododendron ponticum* L., *Hedera colchica* C. Koch., *Castanea sativa* Lam.), а в восточной части котловины вышеперечисленные растения не встречаются, уменьшается количество таких видов, как *Taxus baccata* L., *Ulmus elliptica* C. Koch. и др.

Различие восточной и западной части Сванетского флористического округа вызвано влиянием следующих факторов: растительность восточной части Верхней Сванетии более ксерофильная, на ней больше, чем в западной части, сказывается антропогенное влияние. Значительная часть темнохвойных лесов в восточной части уничтожена, в их составе преобладает ель, тогда как в западной части преобладает лиственница. На востоке подлесок колхидского типа постепенно исчезает, появляется осина, сосна и высокогорный дуб (*Quercus macranthera* Fisch. et Mey.) — это характерно для засушливых районов Восточного Закавказья. Западная часть Сванетского флористического округа в основном расположена в колхидском регионе.

В восточной котловине в виду более континентального климата растительность имеет иной характер.

Площадь ущелья Мestia-чала равна приблизительно 46000 га. На этой площади нами собрано 720 видов и разновидностей из споровых и сосудистых растений, которые относятся к 343 родам и 77 семействам. Некоторые семейства представлены 1 или 2—3 видами. Выделяется семейство *Compositae*, представленное 95 видами, т. е. 13% общего флористического состава ущелья. На втором месте находится семейство *Gramineae*, содержащее 48 видов (6,66%), далее следует *Rosaceae*—47 видов (6,54%),



*Caryophyllaceae* и *Lerguminosae*—34 вида (4,74%) и т. д. Количество родов в этих семействах распределяется так: *Compositae*—43 рода, *Gramineae*—25, *Cruciferae*—20, *Rosaceae*—17 и т. д.

На изученной территории по количеству видов ведущими являются следующие роды: *Cirsium*—13 видов, *Campanula*—12, *Ranunculus*—11 видов и 1 разновидность, *Cerastium*—10, *Saxifraga* и *Veronica*—9, *Carex*, *Alchimilla*, *Potentilla*, *Trifolium*, *Senecio*—8, *Pedicularis*, *Primula*, *Silene*, *Viola*, *Rosa*, *Geranium*—7, *Festuca*, *Sedum*, *Valeriana*—6 и т. д. 185 родов представлено одним видом, 48 родов—двумя, 31 род—тремя, 4—четырьмя и 7 родов—пятью видами.

Некоторые ботаники количественные соотношения в составе флор называют систематической структурой [7].

По количеству видов в составе флоры ущелья Местиа-чала преобладают вышеуказанные роды, но ценотическое значение присваивается следующим: *Abies*, *Picea*, *Pinus*, *Calamagrostis*, *Festuca*, *Nardus*, *Populus*, *Carpinus*, *Corylus*, *Quercus*, *Betula*, *Alnus*, *Polygonum*, *Aconitum*, *Ranunculus*, *Berberis*, *Saxifraga*, *Alchimilla*, *Sibbaldia*, *Spiraea*, *Astragalus*, *Trifolium*, *Vicia*, *Cerastium*, *Acer*, *Carum*, *Heracleum*, *Rhododendron*, *Anemone*, *Vaccinium*, *Asperula*, *Campanula*, *Jurinnella*, *Cirsium*.

Из них ведущая роль в ценозах лесного и субальпийского пояса принадлежит следующим родам: *Abies*, *Picea*, *Pinus*, *Fagus*, *Alnus*, *Betula*, *Quercus*, *Acer*, *Populus*, *Rhododendron* и др.; в высокоотравье: *Aconitum*, *Cirsium*, *Senecio*, *Heracleum*; на субальпийских лугах: *Calamagrostis*, *Nardus*, *Festuca*, *Anemone*, *Alchimilla*; в кустарниках (лесного пояса); *Corylus*, *Rhododendron*, *Spiraea*; в субальпийских и альпийских кустарниках: *Rhododendron*, *Vaccinium*, *Juniperus*; в альпийских лугах: *Alchimilla*, *Geranium*, *Festuca*, *Sibbaldia*, *Nardus*, *Anemone*; на альпийских коврах: *Ranunculus*, *Campanula*, *Sibbaldia*, *Anthemis*, *Alchimilla*; на скалах, осыпях, моренах и щебнистых местах субнивального и нивального поясов: *Cerastium*, *Anthemis*, *Saxifraga*, *Alchimilla*, *Minuartia* и др.

В ущелье Местиа-чала обнаружено несколько видов, которые до настоящего времени не приводились в литературе по Западной Грузии: *Cerastium holosteum* Fisch. ex Hornem, *Gladiolus kotschianus* Boiss., *Coluteocarpus vesicaria* (L.) Holmb., *Alchimilla chlorosericea* Bus., *Viola minuta* Bieb., *Primula luteola* Rupr., *Pirola chlorantha* Swartz. Эти виды впервые приводятся нами для Западной Грузии, а также для Верхней Сванетии.

В этом ущелье встречается яснолка—*Cerastium svanicum* Char., являющаяся эндемом Сванетского флористического округа. Вид этот в большом количестве произрастает на моренах и щебнистых местах альпийского и субнивального поясов, где и образует группировки. Здесь встречаются растения, характерные для Северного Кавказа: *Charesia akinfiewii* (Schmalh) E. Busch, известная только из Нижней Сванетии—по материалам Д. А. Очиаури [5] и *Campanula anomala* Fom.—этот вид приводится нами впервые [1,3]. В этом ущелье распространены такие растения, которые характеризуются узкокавказным ареалом и являются эндемиками Грузии: *Corydalis vitata* A. Kolak., *Rosa hirtissima* Lonacz., *Genista svanica* Schischk.

ex Grossh., *Vicia abbreviata* Fisch. et Spreng., *Heracleum sommierii* Manden.  
ex Grossh. и др.

Ущелье Местиа-чала является классическим местом для таких видов, как: *Rosa svanica* Crep., *Cerastium svanicum* Char., *Cirsium caput-medusae* Somm. et Levier.

Т а б л и ц а 1

Количественные соотношения систематических групп в  
основных высотных поясах

Группа растений	Высотный пояс				
	т.	subalp.	alp.	subniv.	niv.
Споровые растения	39	44	27	14	7
Высшие растения	470	360	208	100	29
Деревья	27	11			
Кустарники	41	47	13	5	
Всего деревьев и кустарников	68	58	13	5	
Травянистые растения	402	302	195	95	29
Однолетники	51	8	3		
Многолетники	351	294	102	95	29
Эндемы Грузии	20	23	11	4	1
Эндемы Кавказа	59	70	74	40	12
Всего эндемов	79	93	85	44	13
%-ное соотношение эндемов среди цветковых растений	16,8	25,8	40,8	44	44,8

В целом в ущелье нами собрано около 70 видов, которые в литературе по Сванетской флоре до сих пор не были известны.

Изученная территория расположена в 5 вертикальных поясах растительности: лесном, субальпийском, альпийском, субнивальном и нивальном. Флористическое богатство по отдельным группам (споровым и высшим) каждого пояса следующее: в лесном поясе встречается 39 видов споровых растений, субальпийском — 44, альпийском — 27, субнивальном — 14, нивальном — 7 (табл. 1).

Из 69 видов споровых растений 14 приурочены исключительно к лесному поясу, 2 — субальпийскому, 20 видов являются общими для лесного и субальпийского поясов, 5 — для лесно-субальпийско-альпийского, 14 — субальпийско-альпийского, 2 — субальпийско-альпийско-субнивальном-нивальном, 5 — альпийско-субнивальном.

Из высших растений в лесном поясе встречается 470 видов, из них 20 — эндемы Грузии, 59 — эндемы Кавказа, т. е. всего в лесном поясе 79 эндемичных видов (16,8% и 22,5%). Они распределяются следующим образом: 23 эндемичных вида — исключительно в лесном поясе (9,38%), 12 — в субальпийском (34,28%), 8 — в альпийском (47,06%), 35 эндемов — общие для лесного и субальпийского поясов (23,18%), 20 — для лесно-субальпийско-альпийского (32,25%), 14 — субальпий-



ско-альпийского (35%), 8 — субальпийско-альпийско-субнивального (28,5%), 5 — альпийско-субнивально-нивального (38,46%), 7 — субнивально-нивального (77,7%) поясов.

Такой большой процент эндемов субнивального и нивального поясов (табл. 2), по нашему мнению, указывает на древность существования этих самостоятельных поясов, в чем сомневаются некоторые авторы (А. И. Галушко [2], В. М. Прима [6]).

В субнивальном и нивальном поясах в ущелье Местиа-чала нами зарегистрировано 100 видов покрытосеменных растений и 14 споровых растений, а по данным А. Л. Харадзе [9] и нашим [1] в субнивальном и нивальном поясах Верхней Сванетии встречается 113 видов покрытосеменных растений. Из них 88,5% встречается в ущелье Местиа-чала. Поэтому ущелье это можно считать классическим объектом для изучения флоры субнивального и нивального поясов Верхней Сванетии.

А. Л. Харадзе [10] для субнивального пояса Центрального Кавказа приводит 109 видов, А. Г. Долуханов [4] — 191 вид. По данным А. Г. Долуханова 49% представляют кавказские эндеми, а выше 3500 м н. у. м. эндемизм достигает 65—70%.

По А. А. Федорову [8] высокогорная флора Кавказа, в особенности его Западная часть, является третичным реликтом.

Таблица 2  
Распределение отдельных систематических групп между поясами

Группа растений	Высотный пояс													Всего			
	m	m-subalp	subalp	m-subalp-alp	subalp-alp	alp	m-subalp-alp-subnitv	subalp-alp-subnitv	alp-subnitv	subnitv	m-subalp-alp-subnitv-nitv	subalp-alp-subnitv-nitv	alp-subnitv-nitv				
Споровые	14	20	2	5	14			2	5								
Высшие растения	245	151	35	62	40	17	10	28	32	1	2	5	13	9			69
Всего споровых и высших растений	259	171	37	67	54	17	10	30	37	1	2	5	14	15			720
Деревья	16	11															27
Кустарники	23	11	2	4	2		3	2									47
Всего деревьев и кустарников	39	22	2	4	2		3	2									74
Травянистые растения	206	149	33	58	38	17	7	26	32	1	2	5	13	9			577
Однолетники	38	4		1		1											44
Многолетники	168	145	33	57	38	16	7	26	32	1	2	5	13	9			533
Эндемы Грузии	5	10	4	5	1	2			3								31
Эндемы Кавказа	18	25	8	15	13	6	1	8	11				5	6			116
Всего эндемиков	23	35	12	20	14	8	1	8	14				5	7			147
%ное соотношение эндемиков среди цветковых растений	9,5	23,2	34,2	32,3	35	47	10	28,5	43,8				38,5	77,8			22,6

Флористический округ Сванетии испытывает влияние Колхиды. Западная часть его представлена реликтовыми лесами. Флора этих лесов имеет третичное происхождение, современные природные и климатические условия способствуют их распространению на данной территории. Третичный возраст имеют лесные фитоландшафты не только среднегорного пояса, но и низкогорного и верхнегорного поясов. Состав и ботанико-географический анализ флоры альпийского и субнивального



поясов подтверждают мысль о древнем возрасте эндемов. Миграция флоры в ледниковом периоде обогатила флору Сванетии. Вместе с автохтонными элементами в Сванетии встречаются и аллохтонные. В верхних поясах преобладают автохтонные виды. 27 из 470 видов — деревья, 41 — кустарники, 402 — травянистые (51 — однолетники, 351 — двулетники и многолетники).

В субальпийском поясе растет 360 видов высших растений: 11 деревьев, 47 кустарников, 302 травянистых растения, 8 из которых — однолетники, 294 — двух- и многолетники, 23 — эндемы Грузии, 70 — эндемы Кавказа, т. е. всего 93 эндемичных вида, что и составляет 25,86% высших растений.

В альпийском поясе растет 209 видов высших растений: 14 кустарников, 195 травянистых растений, 3 однолетника, 192 двух- и многолетника. В этом поясе встречается 11 эндемичных видов Грузии, 75 — эндемы Кавказа; всего 86 эндемичных видов, т. е. 41,91%.

В субнивальном поясе растет 100 видов высших растений: 5 — кустарники, 95 — травянистые растения, эндемов Кавказа — 40, эндемов Грузии — 4, т. е. 44%.

В нивальном поясе 29 видов высших растений: 1 — эндем Грузии, 12 — эндемы Кавказа, всего 13 эндемичных видов, т. е. 44,83%.

Количество видов приводится на основании собранного нами фактического материала. Как видно, здесь выделяется лесной пояс, который содержит 470 высших растений. По вертикальным поясам с увеличением высоты уменьшается количество однолетников и древесных растений. В лесном поясе встречается 51 вид однолетников, в субальпийском — 8, альпийском — 3; в субнивальном и нивальном поясах однолетники совсем не встречаются, что объясняется экологическими и природно-климатическими условиями. С увеличением высоты над уровнем моря увеличивается процентный состав эндемов, так например: высшие растения лесного пояса составляют 16,8% эндемичных видов, субальпийского — 25,86%, альпийского — 41,8%, субнивального — 44%, нивального 44,83%.

Как мы уже отмечали, в ущелье Местриа-чала нами зарегистрировано 720 видов растений, 259 из них встречаются только в лесном поясе, 37 — субальпийском, 17 — альпийском, 1 — субнивальном; 171 — общие для лесного и субальпийского поясов виды, 10 — для лесно-субальпийско-альпийско-субнивального, 2 — лесно-субальпийско-альпийско-субнивально-нивального, 54 — субальпийско-альпийского, 14 — альпийско-субнивально-нивального, 15 — субнивально-нивального поясов (табл. 2).

Из 651 вида высших растений этого ущелья 147 — эндемичные.

**ЛИТЕРАТУРА**

1. ზ უ რ გ ბ ი ბ ნ ბ. სპ. სსრ მეც. აკად. შრომებ, 68, 1, 187—183, 1972.
2. Г а л у ш к о А. Н. В сб.: Пятое всесоюзное совещание по вопросам изучения флоры и растительности высокогорий (Тезисы докладов), Ленинград—Баку, 1972, 106—111.
3. Гагნიдзе Р. И., Кемулариа-Натадзе Л. М., Микеладзе И. А. Проблемы ботаники, 12, «Наука», Л., 1974, 135—142.
4. Д о л у х а н о в А. Г. Бот. журн. 11, 1662—1674, 1969.
5. О ч и а у р и Д. А. В сб.: Заметки по систематике и географии растений, «Мецниереба», Тбилиси, 24, 1965, 87—88.
6. П р и м а В. М. В сб.: Пятое всесоюзное совещание по вопросам высокогорий (Тезисы докладов), Ленинград—Баку, 1971, 54—57.
7. Т о л м а ч е в А. И. Введение в географию растений, Изд-во ЛГУ, Л., 1974.

8. Федоров А. А. В сб.: Материалы по четвертичному периоду СССР, 3, М.-Л., 1952, 49—86.
9. Харадзе А. Л. Заметки по систематике и географии растений, Изд-во АН ГССР, Тбилиси, 12, 1944, 1—11.
10. Харадзе А. Л. Заметки по систематике и географии растений, «Мешинереба», Тбилиси, 25, 1965, 103—114.

## მესტია-ჭალის ხეობის ფლორა

ბ. ზურბიანი

საქართველოს სსრ მეცნიერებათა აკადემიის ბოტანიკის ინსტიტუტი, თბილისი

რ ე ზ ი უ მ ე

ნაშრომში მოცემულია მესტია-ჭალის ხეობის ფლორის სისტემატიკური სტრუქტურა, განხილულია ცალკეული სისტემატიკური ჯგუფები ვერტიკალური სარტყლიანობის მიხედვით, შედარებულია ზემო სვანეთის აღმოსავლეთი და დასავლეთი ქვაბულების ფლორისტული შედგენილობა. გარკვეული ყურადღება ეთმობა რელიქტურობას, ენდემიზმსა და საერთოდ ამ ფლორის წარმოშობის ისტორიის საკითხებს.

## THE FLORA OF MESTIA-CHALA GORGE

B. G. ZUREBIANI

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

### S u m m a r y

A systematic structure of Mestia-chala gorge flora is described. Separate systematic groups are considered according to the vertical zones. High Svanetian East and West hollows floristic composition is compared. Special attention is paid to the relictivity, endemism and generally to the historical question of the origin of this flora.

УДК 616.936

ЭНТОМОЛОГИЯ

## ЭФФЕКТИВНОСТЬ ГАМБУЗИИ В БОРЬБЕ С ПРЕИМАГИНАЛЬНЫМИ ФАЗАМИ КРОВОСОСУЩИХ КОМАРОВ (*DIPTERA, CULICIDAE*) В ГРУЗИИ

Ш. Г. Сичинава

НИИ медицинской паразитологии и тропической медицины им. С. С. Вирсаладзе  
МЗ ГССР, Тбилиси

Поступила в редакцию 13.5.1979

В экспериментах одна взрослая и голодная гамбузия в течение 18—24 часов съедает в среднем 60—80 личинок и куколок *Anopheles* и подсемейства *Culicinae*. В природе в открытых и слабо заросших водоемах с гамбузиями (из расчета 0,5—5 рыбок на 1 м<sup>2</sup>) личинки и куколки этих комаров не обнаруживаются, а в подобных водоемах без гамбузий их численность очень высокая. В сильно и умеренно заросших, а также в мутных и загрязненных органическими веществами открытых водоемах при наличии в них 10—30 гамбузий на 1 м<sup>2</sup> число личинок и куколок *Anopheles* и *Culicinae* значительное. Расчистка водоемов от растительности и предотвращение их загрязнения обеспечивают высокую эффективность гамбузии в борьбе с водными фазами малярийных и немаларийных комаров.

Насекомоядная рыбка гамбузия, впервые завезенная из Италии в СССР (в Абхазию) доктором Н. П. Рухадзе в 1925 г., сыграла большую роль в Грузии и других южных республиках страны в борьбе с преимагинальными фазами переносчиков малярии [1, 3, 5, 7, 8, 9, 11, 12, 14, 16]. Гамбузия интенсивно питается как водными фазами комаров, так и другой фауной и флорой водоемов [10, 13, 15]. По наблюдениям Л. П. Каландадзе и И. З. Мчедлидзе [15] в экспериментах одна голодная гамбузия в течение 3 суток проглатывала 1400—1500 личинок комаров. После вывоза из СССР и расселения гамбузии в водоемах Афганистана произошло значительное снижение численности комаров в этих местах [4]. По наблюдениям В. Л. Куланина [6] в Узбекистане в открытых или слабо заросших водоемах при наличии 0,5—0,7 гамбузии на 1 м<sup>2</sup> личинки *Culicinae* не обнаруживаются. В оазисе Гордая (Алжир) в открытых болотах под гамбузией прекращен выплод комаров [19]. Аналогичное явление наблюдается и в водоемах Индии, заселенных указанными рыбками [22]. В Калифорнии (США) в борьбе с водными фазами *An. freeborni* и *C. tarsalis* большие успехи достигнуты также в результате широкого применения гамбузии [18, 23]. При норме 1000 экземпляров гамбузии на 4047 м<sup>2</sup> водной площади ими уничтожается 99% личинок указанных комаров [20, 21]. Однако в Азербайджане в сильно заросших водоемах наблюдалось сожительство гамбузии и личинок *Anopheles* [2].

При наших многолетних наблюдениях часто встречались водоемы как заросшие, так и открытые — мутные и загрязненные с достаточным количеством гамбузий, заселенные водными фазами *Anopheles* и *Culicinae*. В связи с этим мы поставили перед собой цель изучить ларвифагную [17] способность гамбузии (*Gambusia affinis holbrockii* Gir.) в природе и в экспериментах.

#### МАТЕРИАЛ И МЕТОДИКА

Для установления ларвифагной способности гамбузии и факторов, мешающих ей в природе, наблюдения проводили в 1955—1977 гг. С этой целью в 10 районах Западной Грузии выделили по пяти открытых, слабо, умеренно и сильно заросших водной растительностью, а также открытых, но мутных и загрязненных органическими веществами загамбузированных водоемов (болота, заболоченности грунтового, атмосферного и родникового питания, озера, припойменные водоемы, лужи, каналы, каналы, копанки), служащих для развития преимагинальных фаз отдельных видов *Anopheles* (*An. maculipennis*, *An. claviger*, *An. hyrcanus*), *Aedes* (*A. vexans*, *A. cinereus*, *A. caspius*), *Culex* (*C. p. pipiens*, *C. p. molestus*, *C. theileri*, *C. territans*, *C. hortensis*) и *Culiseta annulata*. Число гамбузий в открытых и слабо заросших водоемах на 1 м<sup>2</sup> варьировало от 0,5 до 5, а в сильно и умеренно заросших — от 10 до 30 экземпляров. Контролем служили те же типы водоемов без гамбузии. В течение сезона (апрель—октябрь) еженедельно для установления наличия и сезонного хода численности личинок и куколок *Anopheles* и *Culicinae* производили обследование этих водоемов со взятием проб водяным сачком. Определяли также видовой состав водяной растительности и степень зарастаемости ею указанных водоемов. Кроме того, из незагамбузированных контрольных водоемов вылавливали личинок и куколок *An. maculipennis*, *An. claviger*, *C. pipiens* и *A. vexans*, приносили их в лабораторию (температура воздуха 22—26°) и помещали в количестве 100 экземпляров (по 20 штук личинок I—IV стадии и куколок соответственно) в ведро с водой (5—6 л) из естественных для каждого вида биотопов, куда опускали одну сравнительно взрослую и голодавшую в течение 2 суток гамбузию размером 3—5 см. Для выяснения ларвифагной способности гамбузии в отношении личинок и куколок указанных комаров опыты были поставлены в 3-кратной повторности.

#### РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЙ

Выяснилось, что в болотах, заболоченностях, канавах и мелко-водных каналах Колхидской низменности из погруженной водной растительности встречаются в основном пушицы (*Eriophorum*), торфяные мхи (*Sphagnum*), элодея (*Elodea*) и роголистник (*Ceratophyllum demersum* L.). В указанных водоемах, прудах, заводях рек и озерах среди прикрепленной плавающей растительности распространены также разные виды рдестов (*Potamogeton natans* L., *P. crispus* L., *P. pusillus* L.), водокрас обыкновенный (*Hydrocharis morsus-ranae* L.), а в озерах, кроме того, — валлиснерия спиральная (*Valisneria spiralis* L.) и желтая кувшинка (*Nuphar luteum* L.)



Smith.). В этих водоемах развиваются в основном водные фазы *An. maculipennis*, а также личинки *C. pipiens*. Из надводной растительности в болотах, заболоченностях, канавах и каналах растут также широколистный рогоз (*Thipha latifolia* L.), тростник обыкновенный (*Phragmites communis* Tr.), камыш (*Scirpus*), сьть (*Cyperus*), ситник (*Juncus*), частуха (*Alisma plantago-aquatica* L.), гречиха пальчатая (*Paspalum digitaria* Poir.) и др. В этих биотопах развиваются в основном преимагинальные фазы *An. hircanus*, *C. pipiens* и *An. maculipennis*. Летом личинки *An. claviger* встречаются в затененных деревьями водоемах родникового питания и заводях рек, слабо или умеренно покрытых гречихой и свинороем (*Cynodon dactylon* (L.) Pers.). Однако в остальные периоды года они заселяют и другие водоемы (канавы, каналы, заболоченности и др.), питающиеся как родниковыми, так и грунтовыми водами и атмосферными осадками. Водные фазы *A. vexans* и *A. caspius* приурочены к открытым или к слабо покрытым гречихой пальчатой припойменным и луговым временным водоемам, а личинки *A. cinereus*—к постоянным и временным водоемам, затененным ольховыми лесами и кустарниками. Преимагинальные фазы *C. territans* и *C. hortensis* развиваются преимущественно в постоянных водоемах речного или родникового питания, богатых гречихой пальчатой, свинороем и др. Личинки *C. theileri* предпочитают также водоемы, заросшие указанной растительностью, но с загрязненной водой. Водные фазы *C. p. pipiens* заселяют всевозможные открытые или слабо покрытые растительностью водоемы преимущественно с грязной водой, а для развития личинок *C. p. molestus* характерными биотопами являются закрытые подземные водоемы, сильно загрязненные разлагающимися органическими веществами. Личинки *Cs. annulata* и *Cs. setivalva* предпочитают затененные открытые или с редкой растительностью водоемы, в основном с загрязненной водой.

В лаборатории одна сравнительно взрослая и голодная гамбузия в течение суток проглатывала в среднем 72 (61—83) личинок и куколок *An. maculipennis*, при проведении опытов с *An. claviger*—77 (66—88), с *A. vexans*—60 (43—81), а с *C. pipiens* в течение 18—24 часов—80 (41—100) личинок и куколок.

В Колхидской низменности массовый уход гамбузии на зимовку наблюдается приблизительно в первой половине ноября, а массовый выход из зимовки — в конце марта — в начале апреля при температуре воды 8—9 и 9—10° соответственно. Таким образом, в водоемах гамбузия находится в активном состоянии почти с появления и до исчезновения в этих биотопах личинок и куколок *Anopheles* и *Culicinae*.

Полученные в лаборатории результаты полностью подтверждают наблюдения в природе. Так, например, в открытых и слабо заросших водоемах с гамбузией с чистой или с умеренно грязной водой личинки и куколки комаров *Anopheles* и *Culicinae* не обнаруживаются, а в таких же незагамбузированных водоемах, расположенных рядом с ними, число личинок и куколок этих комаров на 1 м<sup>2</sup> варьирует от 2 до 2916 экземпляров (см. таблицу). Однако в подобных загамбузированных биотопах с мутной или загрязненной органическими веществами водой в Сухуми и Ткварчели при наличии в них 10—30 гамбузий на 1 м<sup>2</sup>

Сезонный ход численности личинок и куколок комаров в открытых и заросших водной растительностью, заболоченных и незаболоченных водоемах Западной Грузии на 1 м<sup>2</sup> водной поверхности\*

Виды комаров	Число личинок и куколок (по месяцам) в водоемах с гамбузией														Число личинок и куколок (по месяцам) в водоемах без гамбузии													
	сильно заросших							умеренно заросших							сильно и умеренно заросших							открытых						
	IV	V	VI	VII	VIII	IX	X	IV	V	VI	VII	VIII	IX	X	IV	V	VI	VII	VIII	IX	X	IV	V	VI	VII	VIII	IX	X
<i>An. maculipennis</i>	5	18	42	63	78	57	27	2	7	14	29	32	25	11	8	45	91	164	227	118	52	4	25	54	76	85	70	38
<i>An. claviger</i>	—	4	—	—	—	1	2	7	10	8	9	7	12	14	48	64	53	42	36	57	62	65	74	81	47	24	62	78
<i>An. hyrcanus</i>	2	7	23	30	45	40	14	3	5	10	15	23	18	8	6	12	48	96	112	78	57	—	2	—	—	—	5	4
<i>C. p. ripiens</i>	4	6	14	16	10	18	12	2	2	6	9	13	7	4	15	32	85	163	215	134	66	75	274	1010	2435	1916	2457	962
<i>C. theileri</i>	2	11	21	27	36	32	17	—	6	12	16	20	19	10	11	23	44	58	98	85	41	5	11	13	18	31	25	14
<i>C. ferrillans</i>	1	8	15	18	13	14	6	—	3	7	7	11	4	2	5	18	47	134	257	98	65	7	24	55	79	74	45	32
<i>C. hortensis</i>	3	5	17	25	32	21	8	—	2	8	12	17	14	7	6	15	53	85	106	81	36	3	9	34	51	44	32	16
<i>Cs. annulata</i>	—	—	—	4	7	12	6	—	—	2	5	7	9	3	2	6	12	27	58	86	63	11	23	36	72	145	175	96

\* Наблюдения проводились в водоемах, характерных для развития преимущественных фаз отдельных видов комаров



количество личинок и куколок *C. p. pipiens* и *Cs. annulata* в течение сезона (апрель-ноябрь) колебалось от 2 до 1026 и от 3 до 46 экземпляров на 1 м<sup>2</sup> соответственно. По нашему мнению, это обстоятельство объясняется заметно пониженной видимостью гамбузии в таких водоемах.

При полевых наблюдениях в сильно и умеренно заросших водной растительностью загамбузированных водоемах, характерных для развития преимагинальных фаз отдельных видов комаров, всегда обнаруживались личинки и куколки *Anopheles* и *Culicinae*. Однако в таких же заросших и открытых контрольных водоемах без гамбузии, находящихся недалеко от них, количество личинок и куколок этих комаров в несколько раз превышало число водных фаз указанных кровососов в водоемах с гамбузией (см. таблицу). Значит, в заросших водоемах доступ гамбузии к личинкам и куколкам комаров ограничивается водной растительностью и заметно снижается эффективность этой рыбки. Однако отдельные группы водной растительности по-разному влияют на эффективность гамбузии. Так, например, в загамбузированных водоемах, сильно и умеренно заросших вышеуказанной погруженной или плавающей растительностью, встречалось особенно много личинок и куколок основного переносчика малярии — *An. maculipennis*, а в водоемах с гамбузией, покрытых надводной растительностью, обнаруживались также водные фазы *An. hyrcanus* и отдельных видов *Culex*, но в сравнительно меньшем количестве (см. таблицу).

Во временно открытых и слабо покрытых травянистой растительностью водоемах, являющихся характерными биотопами преимагинальных фаз *Aedes* (*A. vexans*, *A. cinereus*, *A. caspius*), при наличии в них гамбузии личинки и куколки этих комаров не встречаются, но массовый выплод указанных насекомых наблюдается из микроводоемов в поймах рек, на лугах и в ольховых лесах, где расселение рыбки из-за многочисленности таких водоемов и ничтожного объема воды в них затруднено. Гамбузия неприменима в борьбе с водными фазами *C. p. molestus*, размножающихся в загрязненных водоемах подземных сооружений (подвалы, закрытые каналы, канализационные трубы и их колоды), и с преимагинальными фазами комаров, выплывающих в скоплениях воды в дуплах деревьев (*An. plumbeus*, *A. geniculatus* и др.), так как эта рыбка подобных экологических условий не выдерживает.

Таким образом, на основании проведенных исследований можно заключить, что применение гамбузии при периодической очистке водоемов от растительности и предотвращении загрязнения воды является незаменимым методом эффективной биологической борьбы против преимагинальных фаз *Anopheles* и *Culicinae*, большинство видов которых являются основными компонентами гнуса в Грузии.

#### ЛИТЕРАТУРА

1. Авдеева Я. Т., Зимин Н. А., Элигулашвили К. И. Мед. паразитол. и паразитарн. болезни, 21, 6, 572—575, 1952.
2. Богоявленский Н. А. Мед. паразитол. и паразитарн. болезни, 5, 1, 62—64, 1936.
3. Джапаридзе П. С. Тр. Тропического института Наркомздрава Абхазской АССР, АБГИЗ, Сухуми, 3, 1937, 84—93.
4. Ермишев Ю. В., Полевой Н. И., Артемьев М. М. В сб.: Достижения медицинской паразитологии и тропической медицины, «Медицина», Тбилиси, 1975, 155—157.
4. Серия биологическая, т. 6, № 3



5. Каландадзе Л. П., Таирова А. И. Гамбузия и их применение в борьбе против комаров в южных районах СССР, Грузмедгиз, Тбилиси, 1940.
6. Куланин В. Л. Мед. паразитол. и паразитарн. болезни, 44, 2, 235, 1975.
7. Рухадзе Н. П. Тр. Центральной станции тропической медицины, 1, 141—143, 1927.
8. Рухадзе Н. П. Мед. паразитол. и паразитарн. болезни, 3, 1, 60—67, 1934.
9. Сичинава Ш. Г. Фауна, биология, экология кровососущих комаров (*Diptera, Culicidae*) и меры борьбы с ними в Абхазской АССР. Автореф. канд. дисс., Тбилиси, 1970.
10. Соколова М. Ф. Тр. Тропического института Наркомздрава Абхазской АССР, АБГИЗ, Сухуми, 3, 1937, 79—82.
11. Соколов Н. П. Гамбузия и их использование в борьбе с малярией, Ташкент, 1940.
12. Таирова А. И. Гамбузия в борьбе с личинками комаров в Восточной Грузии. Автореф. канд. дисс., Тбилиси, 1946.
13. Таирова А. И. Сборник трудов НИИМП и ТМ им. С. С. Вирсаладзе, Тбилиси, 4, 1963, 147—152.
14. კალანდაძე ლ. პ. ტექნიკა და შრომა, 4, 63—64, 1933.
15. კალანდაძე ლ. პ., მჭედლიძე ი. ზ. ტროპიკული მედიცინის მოამბე, 3, 1, 23—40, 1930.
16. კალანდაძე ლ. პ., თაიროვა ა. ი. კოლოების წყლის ფაუნის საწინააღმდეგოდ გამბუზიის მასობრივად გამოყენების საკითხისათვის, „საქმედგამი“, თბილისი, 1942.
17. მარუაშვილი გ. მ. ს. ვირსალაძის სახ. სამედიცინო პარაზ. და ტროპ. მედიც. ს/ც. ინსტიტუტის შრომების კრებული, 1(22), 17—29, 1976.
18. Bay E. C. Proc. and Pap. 37th Ann. Conf. Calif. Mosquito Contr. Assoc., Los Angeles, Calif., 1969, Visalia, Calif., 1970, 15—16.
19. Benabadji M., Larrouy G. Bull. Soc. hystoire natur. Afrique Nord, 60, 1-2, 3—5, 1969.
20. Hoy J. B., Reed D. E. Mosquito News, 30, 2, 222—230, 1970.
21. Hoy J. B., Kauffman E. E., O'Berg A. G. Mosquito News, 32, 2, 161—171, 1972.
22. Sharma M. I. D. J. Commun. Diseases, 6, 2, 136—141, 1974.
23. Washino R. K. Proc. and Pap. 37th Ann. Conf. Calif. Mosquito Contr. Assoc., Los Angeles, Calif., 1969, Visalia, Calif., 1970, 16—19.

გამბუზიის ეფექტურობა სისხლმწოვი კოლოების (*DIPTERA, CULICIDAE*) იმავლენის ფაზებთან საბრძოლველად საქართველოში

ზ. სიხინავა

საქართველოს სსრ ჯანმრთელობის დაცვის სამინისტროს ს. ვირსალაძის სახელობის სამედიცინო პარაზიტოლოგიისა და ტროპიკული მედიცინის ინსტიტუტი, თბილისი

რეზიუმე

ექსპერიმენტში 18—24 საათის განმავლობაში ერთი მოზრდილი და მშვიერი გამბუზია საშუალოდ 60—80-მდე *Anopheles*-ს მატლსა და *Culicinae*-ისა და ჭუპრს ანადგურებს. ბუნებაში, ღია და მცენარეულობით სუსტად დაფარულ ბიოტოპებში, სადაც 1 მ<sup>2</sup>-ზე 0,5—5 გამბუზია მოდის, ამ კოლოების მატლები და ჭუპრები არ აღინიშნება, ხოლო მსგავს დაუგამბუზიებელ წყალსატევებში მათი რიცხვი ძალიან მაღალია. წყლის მცენარეულობით ძლიერ და ზომიერად

დაფარულ, აგრეთვე მღვრიე და ორგანული ნივთიერებებით გაბინძურებულ ღია წყალსატევებში, მიუხედავად იმისა, რომ აქ 1 მ<sup>2</sup>-ზე 10—30 გამბუზია მოდის, კოლოების მატლებისა და ქუბრების რიცხვი მაინც შესამჩნევად დიდია. მცენარეულობისგან წყალსატევების გაწმენდა და მათი გაბინძურების თავიდან აცილება უზრუნველყოფს გამბუზიის მაღალ ეფექტურობას როგორც მალარიის, ისე არამალარიის კოლოების წყლის ფაზებთან საბრძოლველად.

## EFFECTIVENESS OF GAMBUSIA AGAINST PREIMAGINAL PHASES OF BLOOD-SUCKING MOSQUITOES (*DIPTERA, CULICIDAE*) IN GEORGIA

SH. G. SICHINAVA

S. S. Virsaladze Institute of Medical Parasitology and Tropical Medicine, Ministry of Health of Georgian SSR, Tbilisi, USSR

### Summary

In experiments one adult hungry gambusia eats up 60—80 larvae and pupae of *Anopheles* and *Culicinae* during 18—24 hours. In natural conditions no larvae and pupae of these mosquitoes are found in open and slightly vegetated basins where there is 0.5—5 gambusia per sq. m., whereas in similar basins without gambusia their number is very great. In heavily and moderately vegetated basins and in open turbid and polluted with organic substances basins with 10—30 gambusia per sq. m. the number of larvae and pupae of *Anopheles* and *Culicinae* is considerable. Vegetation clearing of basins and prevention of their pollution provide high effectiveness of gambusia against preimaginal phases of malaria and non-malaria mosquitoes.

УДК 669.576.8

МИКРОБИОЛОГИЯ

## ФОСФАТРАСТВОРЯЮЩИЕ БАКТЕРИИ В МАРГАНЦЕВЫХ РУДАХ ЧИАТУРСКОГО МЕСТОРОЖДЕНИЯ

Л. И. Сахвадзе, М. И. Имнадзе, А. В. Рапава, М. Ш. Гвилава

*Кавказский институт минерального сырья, Тбилиси*

Поступила в редакцию 27.9.1978

Изучена микрофлора марганцевых руд Чиатурского месторождения. Установлено интенсивное развитие фосфатрастворяющих бактерий. Максимальное их количество было обнаружено в рудничной воде нагорий Дарквети, в водной смеси шлама обогатительной фабрики № 29, в окисных рудах нагорий Перевиси и Шукрути. В карбонатных же рудах нагорий Итхвиси, Перевиси, Ргани, в концентратах «НОФ», в водах реки Квирилы, опробованной выше обогатительных фабрик, данные бактерии не обнаружены.

Из руд Чиатурского месторождения были выделены бактерии, растворяющие фосфат. Установлено, что они переводят в раствор фосфор, органически не связанный с минералами марганца (18—30%) и представленный в рудах единичными зернами фосфата кальция, реже железа.

Обесфосфоривание руды — сложная задача. Это обусловлено генезисом марганцево-рудных месторождений, их осадочным происхождением и значительным содержанием в них различных соединений фосфора, тесно связанных с минералами марганца.

По данным Т. Н. Загю [3] карбонатные руды Чиатурского месторождения сложены карбонатами кальция и марганца, образующими неровный ряд изоморфных смесей. Из них можно выделить три разновидности карбонатов: кальцит, манганокальцит, кальциевый родохрозит.

Работами Я. И. Фомина [4] также установлено, что в марганцевых рудах Чиатурского месторождения фосфор органически связан с марганцевыми рудными минералами. Самостоятельные фосфаты кальция и реже железа, не содержащие марганца, встречаются сравнительно редко в виде зерен.

По данным И. Т. Геллера [2] содержание карбоната кальция в фосфорите является одним из показателей его доступности для микроорганизмов. В настоящей работе были поставлены следующие задачи: изучить распространение в Чиатурском месторождении бактерий, обладающих фосфатрастворяющей способностью; выделить их чистые культуры и установить с их помощью возможность обесфосфоривания забалансовых руд Чиатурского месторождения.

С этой целью фосфатрастворяющие бактерии учитывали на средах Д. М. Новогрудского, Г. С. Муромцева, Р. И. Пиковской и Н. А. Лоу-Вебли. Выделение фосфатрастворяющих бактерий проводили методом Ф. С. Геретсена. Сравнительная доступность запасов подвижного фосфора в рудах определялась методом В. С. Буткевича [1]. Фосфор в жидких культурах и твердых остатках определяли фотоколориметрическим методом.

Результаты исследований показали, что фосфатрастворяющие бактерии хорошо развиваются в условиях данного месторождения. Максимальное их количество было обнаружено в рудничной воде нагорий Дарквети и водной смеси шлама обогатительной фабрики № 29, в окисных рудах нагорий Перевиси, Шукрути. Однако они отсутствовали в карбонатных рудах нагорий Итхвиси, Перевиси, Ргани, концентратах НОФ и в водах реки Квирилы, опробованной выше обогатительных фабрик (табл. 1).

Таблица 1

Распространение фосфатрастворяющих бактерий (количество микроорганизмов в тыс. на 1 г сухой руды или мл рудничной воды)

Место отбора образцов	Тип руды	Питательная среда			
		Ново-грудского	Муромцева	Лоу—Вебли	Пиковской
Нагорье Дарквети	Карбонатная руда	2,5	3,0	70,0	3,5
	Окисная руда	2,3	55,0	4,1	2,5
	Рудничная вода	21,0	5	100,0	15,0
	Водная смесь шлама „НОФ“	6,8	170,4	522,7	12,5
	Шлам промывки руд „НОФ“	8,0	137,5	5,0,0	5,0
Концентрат „НОФ“	0	0	0	0	
Нагорье Перевиси	Карбонатная руда	0	0	0	0
	Окисная руда	8,2	195,8	185,5	31,9
	Водная смесь шлама „ПЕРОФ“	11,5	0	192,3	0
	Шлам промывки руд „ПЕРОФ“	9,0	240,0	20,0	10,0
	Концентрат „ПЕРОФ“	1,5	61,2	137,7	7,6
Нагорье Шукрути	Окисная руда	9,1	214,8	122,4	17,3
	Рудничная вода	3,0	180,0	250,0	7,0
	Шлам „ЦОФ-1“	5,0	270,0	310,0	4,0
Нагорье Итхвиси	Карбонатная руда	0	0	0	0
	Рудничная вода	0	0	0	0
	Шлам „ЦОФ-2“	6,0	140,0	480,0	5,0
	Хвосты „ЦОФ-1“ и „ЦОФ-2“	3,5	70,0	2,0,0	3,0
Нагорье Ргани	Окисная руда	0	0	0	0
	Рудничная вода	0	0	0	0
Нагорье Мгвимеви	Окисная руда	8,3	260,426	395,8	19,7
	Водная смесь шлама	15,3	509,230	76,9	16,9
	Шлам „ОФ-29“	4,0	55,0	275,0	2,5
Река Квирилы	Воды выше обогатительной фабрики	0	0	0	0
	Воды ниже обогатительной фабрики	2,0	60,0	130,0	5,0
	Пробы мха, отобранные на берегу реки	3,5	10,0	230,0	4,5

Примечание: НОФ—новая обогатительная фабрика; ПЕРОФ—пероксидная обогатительная фабрика; ЦОФ—центральная обогатительная фабрика

Как показали наши исследования (табл. 1), для выявления фосфатрастворяющих бактерий целесообразно использовать среду Лоу-Вебли, которая дает возможность максимально выявить бактерий Циатурского месторождения. На рис. 1 изображены колонии бактерий, выделенные из вод реки Квирилы, опробованной ниже обогатительных фабрик. Вокруг колоний этих бактерий видны зоны просветления.

Методом Ф. С. Герретсена из руд Чиатурского месторождения было выделено 98 культур бактерий, обладающих фосфатрастворяющей способностью. До установления нами возможности с их помощью мобилизовать фосфаты возникла необходимость определить сравнительные запасы подвижного фосфата в рудах этого месторождения. Исследования проводились нами с использованием метода В. С. Буткевича.

Таблица 2

Сравнительная доступность фосфоритов к грибу

Характеристики исходных материалов			Характеристики конечных материалов								Биологическое закрепление фосфора мицелием гриба, %
			рН		Вес, г		Содержание Р, мг				
Тип руды	Количество руды, г	Содержание в руде Р, мг	в начале опыта	в конце опыта	сырой мицеллярной пленки	сухой мицеллярной пленки	в мицеллярной пленке гриба	в среде	подвижном фосфоре	в твердом остатке	
Карбонатная	5,0	7,0	7,92	4,54	2,6	0,52	0,9	0,28	1,18	5,3	18,1
Окисный шлам	5,0	6,0	7,88	2,92	4,0	0,8	1,44	0,4	1,84	6,11	23,0

Суть этого метода состоит в том, что гриб *Aspergillus niger* не способен развиваться на субстрате, не содержащем подвижный фосфор. Если вместо недостающего элемента в среду добавить руду, в которой находится этот элемент, то гриб будет развиваться и его клеточная масса отразит содержание фосфора в руде.



Рисунок. Колония бактерий из рудничных вод нагорий Дарквети, расщепляющих неорганические фосфаты (на среде Р. Н. Пиковской). Вокруг колоний зоны растворения фосфата

В серии последующих опытов исследовалось влияние гриба *Asp. niger* на фосфориты карбонатных руд и окисных шламов Чиатурского месторождения. В табл. 2 приведены результаты одного из опытов по определению эффективности разрушения фосфоритов с использованием



*Asp. niger*. Развиваясь на среде В. С. Буткевича, в течение 7 суток *Asp. niger* освобождал от 18,1 до 23,0% фосфора.

Из данных таблицы видно, что наиболее доступными грибу оказались фосфориты окисных шламов. С повышением же карбонатности фосфоритов «урожай» плесени снижался.

Таблица 3  
Сравнительная доступность фосфоритов бедных руд местных штаммов фосфатрастворяющих бактерий

Штамм	Фосфорит	рН		Содержание в исходной руде и фос- форите	Р, мг в среде	Выщелачи- вание Р, %
		в начале опыта	в конце опыта			
№ 3	Карбонатная руда	8,6	8,6	7,0	1,4	20,0
	Окисный шлам	8,2	7,8	6,0	1,6	26,6
№ 4	Карбонатная руда	8,6	6,4	7,0	1,6	22,9
	Окисный шлам	8,2	6,1	6,0	2,0	33,3
№ 7	Карбонатная руда	8,6	7,6	7,0	1,5	21,5
	Окисный шлам	8,2	6,9	6,0	1,7	28,3
№ 12	Карбонатная руда	8,6	6,4	7,0	1,3	21,4
	Окисный шлам	8,2	5,9	6,0	1,8	30,0
№ 18	Карбонатная руда	8,6	7,2	7,0	1,2	17,1
	Окисный шлам	8,2	6,9	6,0	1,4	23,3
№ 25	Карбонатная руда	8,6	6,8	7,0	1,5	21,4
	Окисный шлам	8,2	5,9	6,0	1,6	23,3
№ 28	Карбонатная руда	8,6	7,4	7,0	1,6	22,8
	Окисный шлам	8,2	6,9	6,0	2,2	36,6
№ 30	Карбонатная руда	8,6	7,8	7,0	1,5	21,4
	Окисный шлам	8,2	5,9	6,0	1,8	30,0

В процессе деятельности гриба *Asp. niger* наблюдается резкое снижение рН окружающей среды.

По данным И. Т. Геллера резкое снижение рН питательной среды в таком случае приводит к полному растворению трикальцийфосфата.

Так как в условиях нашего опыта наблюдалось аналогичное явление (табл. 2), можно предположить, что при помощи гриба *Asp. niger* происходило полное растворение находящегося в бедных рудах Чиа-турского месторождения трикальцийфосфата. Полученные результаты подтверждаются и тем, что выделенные нами из данного месторождения штаммы фосфатрастворяющих бактерий в процессе своей жизнедея-



ly in the manganese deposit. The quantity of bacteria was much more in the Darkveti mine water, Perevisi, Shukreti oxide ores and in the Kvirila water, than in Itkhvisi, Perevisi and Rgani carbonate ores.

The phosphate dissolving bacteria were isolated from the Chiatura manganese deposit, and the possibility was shown to transfer phosphorus (18—30%) from the unconditioned ores and remains of industry, which were not connected to the manganese ores and were represented as calcium and ferrous phosphate.

It is concluded that the use of Chiatura poor ores is possible only by manganese leaching.



УДК 616.248:576.8.077.3.

ИММУНОЛОГИЯ

**ИССЛЕДОВАНИЕ НЕКОТОРЫХ ИММУНОЛОГИЧЕСКИХ ПОКАЗАТЕЛЕЙ ПРИ РАЗЛИЧНЫХ ЭТИОПАТОГЕНЕТИЧЕСКИХ ФОРМАХ БРОНХИАЛЬНОЙ АСТМЫ В СВЯЗИ СО СПЕЦИФИЧЕСКОЙ ТЕРАПИЕЙ**

К. А. Цинцадзе

*Тбилисский государственный медицинский институт*

Поступила в редакцию 28.12.1979

Исследовано количественное и функциональное состояние Т и В системы иммунитета у больных инфекционно-аллергической и атопической формой бронхиальной астмы. Разработаны иммунологические критерии для оценки эффективности специфической терапии. Особое внимание уделено постановке иммунологических реакций *in vitro*. Выявлена значительная разница между иммунологическими показателями различных этиопатогенетических форм заболевания, а также их динамика в связи с проводимой терапией.

Среди многочисленных заболеваний органов дыхания важное место занимают аллергические поражения дыхательной системы, в частности бронхиальная астма, которая по определению А. Д. Адо и П. К. Булатова [2] представляет собой классическое аллергическое заболевание, обязательным признаком которого является удушье, вызванное бронхоспазмом, гиперсекрецией и отеком слизистой оболочки бронхов.

В настоящее время выявлено, что важнейшая роль в патогенезе данного заболевания принадлежит дефектам клеточного и гуморального иммунитета [15, 11, 13]. Поэтому при этой патологии имеется полное основание говорить об иммунологической недостаточности, отягочающей течение заболевания. Исследования, выполненные в этом направлении, немногочисленны, результаты их часто противоречивы. Пока еще нет единого представления о характере аллергических реакций, лежащих в основе различных этиопатогенетических форм бронхиальной астмы. Особенно это касается инфекционно-аллергической формы. Если в патогенезе атопической астмы признается ведущая роль аллергии реактивного типа [5, 1, 12, 9], то в патогенезе инфекционно-аллергической формы бронхиальной астмы ряд авторов отводит значительную роль гиперчувствительности замедленного типа [1], а другие исследователи придают основное значение немедленному типу гиперчувствительности. Часть авторов считает, что бронхиальная астма сопровождается Т-лимфоцитарным дефицитом, другая — не находит существенных различий в этом показателе по сравнению с нормой [14, 13, 8].

По мнению большинства отечественных авторов [10, 7, 4, 6] в патогенезе инфекционно-аллергической формы бронхиальной астмы наблюдается участие как немедленных (В-зависимых), так и замедленных (Т-зависимых) аллергических реакций или их сочетание.

В литературе нет единого мнения и о возможности использования иммунологических показателей в качестве критериев для диффе-

рениальной диагностики отдельных этиопатогенетических форм заболевания и оценки специфической терапии. С этой целью были изучены количественные и функциональные показатели Т и В лимфоцитов у больных бронхиальной астмой в зависимости от этиопатогенетических форм заболевания, а также разработаны иммунологические критерии для оценки эффективности специфической терапии. *In vitro* проводили количественное определение Т и В лимфоцитов методом спонтанного и комплементарного розеткообразования, определение концентрации иммуноглобулинов G, A, M сыворотки крови методом радиальной иммунодиффузии (по Манчини и сотр.), а также реакцию бласттрансформации лимфоцитов с неспецифическим (ФГА) и специфическими антигенами.

Было обследовано 80 больных бронхиальной астмой, среди них 60 больных инфекционно-аллергической и 20 неинфекционно-аллергической формами. Наряду с общепринятыми методами клинического исследования большое внимание уделялось результатам кожных и провокационных тестов с неинфекционными и инфекционными аллергенами. Исследования проводились до и после специфической терапии.

При атопической форме бронхиальной астмы (пылевая астма) лечение проводилось по принципу специфической гипосенсибилизации, т. е. путем снижения специфической реактивности организма больного в отношении к аллергенам, вызывающим заболевание. Гипосенсибилизация проводилась водно-солевыми экстрактами по схеме, разработанной аллергологической лабораторией АМН СССР.

При инфекционно-аллергической форме бронхиальной астмы специфическая терапия предусматривала прекращение контакта с аллергеном (что частично достигалось санированием очагов инфекции — тонзиллэктомия, освобождение придаточных пазух носа и др.) и квалифицированную антибактериальную терапию.

У больных атопической формой бронхиальной астмы процентное и абсолютное содержание Т и В лимфоцитов в период обострения заболевания снижалось. Со стороны иммуноглобулинов наблюдалось уменьшение уровня IgG и IgM ( $1202 \pm 56$  и  $87 \pm 7$  мг% соответственно), что касается IgA, то особых сдвигов в его содержании не отмечалось. Реакция бласттрансформации лимфоцитов с ФГА в среднем показала некоторое снижение количества переходных и бластных клеток. Спонтанная трансформация была выявлена в среднем у  $2/3$  числа больных. Бласттрансформация же под воздействием специфического митогена (аллергена из домашней пыли) выражалась в повышенной способности сенсibilизированных лимфоцитов к бластогенезу.

В стадии ремиссии (после проведенной специфической гипосенсибилизации) в этой группе больных количество Т лимфоцитов повышалось, что касается В лимфоцитов, то их уровень значительно превышал нормальный ( $34,5 \pm 4,5\%$ ). Со стороны иммуноглобулинов G и M отмечалась тенденция к повышению ( $1537 \pm 66$  мг% и  $96 \pm 9$  мг% соответственно). При постановке реакции бласттрансформации с ФГА наблюдалось приближение процента бластных клеток к таковому в контрольной группе, а специфический аллерген вызывал закономерное уменьшение числа трансформированных клеток. Наблюдалась определенная корреляция между иммунологическими показателями и клиническим течением заболевания, а также эффективностью проведенной терапии. Наиболее показательным в этом плане является изменение уровня IgG в динамике специфической гипосенсибилизации: чем эффективнее были результаты лечения, тем выше уровень IgG. Последнее может служить достоверным критерием эффективности проводимого лечения.

У больных инфекционно-аллергической формой бронхитальной астмы при исследовании состояния Т и В иммунитета в период обострения заболевания выявился дефицит циркулирующих в крови Т лимфоцитов ( $36,08 \pm 1,61\%$ ), количество В лимфоцитов незначительно увеличивалось ( $28,4 \pm 0,83\%$ ). Уровень иммуноглобулинов всех трех классов имел тенденцию к повышению. Реакция бласттрансформации лимфоцитов с ФГА у 18 больных показала резкое снижение количества переходных и бластных клеток, у остальных — способность к бластогенезу была также сниженной, но не столь значительно.

После проведенного специфического лечения (25 больных) количество Т лимфоцитов возвращалось к исходному уровню ( $54 \pm 2,62\%$ ), а В лимфоцитов почти не изменялось и оставалось повышенным. Иммуноглобулины G, A, M имели тенденцию к снижению, что было статистически достоверно только для иммуноглобулина G ( $1226 \pm 56 \text{ мг}\%$ ). Показатели бластной трансформации с ФГА несколько увеличивались, однако их уровень оставался значительно ниже, чем в контрольной группе. Следует отметить, что показатели бласттрансформации у больных инфекционно-аллергической формой бронхитальной астмы являются более низкими, чем у больных atopической формой и имеют меньшую динамику (цифровые данные, характеризующие реакцию бласттрансформации, приводятся в таблице).

Таблица

Показатели реакции бласттрансформации лимфоцитов у больных различными формами бронхитальной астмы в связи со специфической терапией

Клиническая группа	Количество наблюдений	Фаза заболевания	Показатель бласттрансформации лимфоцитов (%)	
			ФГА	спонтанная
Инфекционно-аллергическая форма бронхитальной астмы (общее количество)	60	обострение	$33,17 \pm 2,05$	$3,0 \pm 0,9$
		ремиссия	$38,63 \pm 2,9$	$2,4 \pm 0,7$
Инфекционно-аллергическая форма бронхитальной астмы (специфическая терапия)	25	обострение	$40,08 \pm 2,7$	—
		ремиссия	$47,81 \pm 3,3$	—
Атопическая форма бронхитальной астмы	20	обострение	$45,22 \pm 2,66$	$1,89 \pm 0,38$
		ремиссия	$52,26 \pm 3,01$	$1,24 \pm 0,31$
Контрольная группа	20		$61,5 \pm 3,7$	$1,2 \pm 0,47$

В заключение следует отметить, что исследование у больных бронхитальной астмой иммунологических показателей в динамике заболевания, а также индивидуальный анализ каждого показателя в сопоставлении с клинической картиной могут служить критерием для диагностики эффективности специфической терапии.

ლიტერატურა

1. Адо А. Д. Частная аллергология, «Медицина», М., 1976.
2. Адо А. Д., Булатов П. К. В сб.: Клинико-физиологические особенности классификации бронхиальной астмы, «Медицина», М., 1969, 10—15.
3. Быкова А. В. III Симпозиум аллергологических и иммунологических обществ социалистических стран, Сухуми, 1979, 65.
4. Беклемишев Н. Д., Нурпеисов Т. Н., Суходеева Г. С. III Симпозиум аллергологических и иммунологических обществ социалистических стран, Сухуми, 1979, 61.
5. Вершигора А. Е. Основы иммунологии, «Вища школа», Киев, 1975.
6. Гамкрелидзе А. Г. К вопросу исследования особенностей иммунологических механизмов неинфекционно-аллергической и инфекционно-аллергической форм бронхиальной астмы. Автореф. канд. дисс., Тбилиси, 1978.
7. Гургенидзе Г. В. В сб.: Патогенез и классификация форм и стадий бронхиальной астмы, «Медицина», Тбилиси, 1968, 27—28.
8. Когосова, Л. С., Чернушенко Е. Ф., Брусилковский Б. М., Балицкая Н. А., Карнах Р. И., Шапочник Е. Н., Кузнецова Л. В., Юхно Н. И. В сб.: Аллергия в клинике и эксперименте, «Медицина», Тбилиси, 1977, 135—137.
9. Попеску И. Г. В сб.: Иммунобиология. Иммунохимия. Иммунопатология. Бухарест, 1975.
10. Сидоренко Е. Н. Инфекционная бронхиальная астма, «Здоров'я», Киев, 1975.
11. Стефани Д. В., Вельтищев Ю. Е. Клиническая иммунология детского возраста, «Медицина», М., 1977.
12. Юренив П. Н., Семенович Н. Н., Чучалин А. Г. Бронхиальная астма, «Медицина», М., 1976.
13. Chazanshahi S., Townley R., Chaperone E., Villacorte G. Ann. Allergy, 36, 5, 324—329, 1976.
14. Giunchi G., Ainti F. Folia allergol. et immunol. clin., 23, 1, 30—38, 1976.
15. Plusa T., Wasek Z., Nowik M. Wiad. lek., 26, 21, 1971—1976, 1973.

ბრონქული ასთმის სხვადასხვა ეტიოპათოგენეზური ფორმით დაავადებულთა გამოკვლევა ზოგადიერითი იმუნოლოგიური მაჩვენებლის სპეციფიკურ მაკრანალოგასთან დაკავშირებით

ა. ციხეაძე

თბილისის სახელმწიფო სამედიცინო ინსტიტუტი

რეზიუმე

ბრონქული ასთმით დაავადებულთა იმუნოლოგიური მაჩვენებლების დინამიკაში გამოკვლევა არსებული მეთოდებით (სპონტანური და კომპლემენტუმ-ბოჭველი როზეტწარმოქმნელი უჯრედების მეთოდი, სისხლის შრატში G, A, M-იმუნოგლობულინების განსაზღვრა მანჩინის რადიალური იმუნოდიფუზიის მეთოდი, ლიმფოციტების ბლასტრანსფორმაციის მეთოდი) საშუალებას გვაძლევს შევადაროთ T და B სისტემის იმუნიტეტი.

თითოეული მაჩვენებლის ანალიზი და მისი კლინიკურ სურათთან შეჯერება შეიძლება გამოვიყენოთ ერთი მხრით, როგორც კრიტერიუმი ბრონქული ასთმის სხვადასხვა ფორმის დიაგნოსტიკაში, ხოლო მეორე მხრით — სპეციფიკური თერაპიის ეფექტურობის შესაფასებლად.

STUDY OF SOME IMMUNOLOGICAL INDICES DURING BRONCHIAL  
ASTHMA OF DIFFERENT ETIOPATHOGENETIC FORMS IN  
REFERENCE TO SPECIFIC THERAPY

K. A. TSINTSADZE

The State Medical Institute, Tbilisi, USSR

S u m m a r y

Using the methods of spontaneous and complement rosette-formation, radial immuno-diffusion by Mancini for the determination of G, A, M immunoglobulins in the blood serum, the reaction of blasttransformation of lymphocytes, the immunological indices were studied in the patients with bronchial asthma, characterizing T and B immune system in the process of the disease. Individual analysis of each indication compared with the clinical picture would serve as a criterion for diagnosis of different etiopathogenetic forms of bronchial asthma and estimation of efficiency of specific therapy.



УДК 577.391:547.96

РАДИОБИОЛОГИЯ

## ВЛИЯНИЕ ИОНИЗИРУЮЩЕГО ИЗЛУЧЕНИЯ НА ВЗАИМОДЕЙСТВИЕ ИОНОВ МЕДИ С ХОЛЕСТЕРИНОМ И БЕЛКАМИ В МОНОСЛОЕ

Г. И. Топчишвили, Н. М. Наврозашвили, А. Р. Егиазарова

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

Поступила в редакцию 26.12.1978

Исследовалось раздельное и совокупное влияние ионов меди и радиации на свойства монослоев холестерина и белков: глобулярного актина, миозина, лизоцима и сывороточного альбумина человека (САЧ). Показано, что с увеличением концентрации ионов меди в субфазе монослоев, сформированных из необлученных растворов белков, площадь последних уменьшается в пределах от 6 до 45% в зависимости от типа белка. Характер воздействия радиации на эффекты, вызванные ионами меди, зависит от величины и мощности дозы. Из исследуемых веществ наиболее чувствительны к влиянию денатурирующих агентов актин и миозин, наименее — холестерин.

Разнообразна роль тяжелых металлов в организме животных. Входя в состав металлоферментов, они участвуют в тканевом дыхании, в кроветворении; в зависимости от концентрации увеличивают или ингибируют активность многих ферментов, не содержащих в своей структуре металлы, изменяя тем самым скорость ферментативных реакций. Взаимодействуя с различными компонентами мембран, они изменяют их проницаемость по отношению к ионам хлора, натрия и калия [8, 10, 11, 14]. В 1972 году Райани и др. [13] показали, что в присутствии ионов меди, железа и цинка мембраны нейронов становятся проницаемыми для катехоламинов. Этот эффект авторы объясняют образованием тройного хелата: металл-фосфолипид-амин. Комплексообразование металлов с липидами было продемонстрировано также в опытах Валли и Ульмира, в которых связывание иона свинца с лецитином мембран эритроцитов приводило к выходу калия из этих клеток [15]. Нарушевичус и др. на основании своих экспериментальных данных предположили, что участие липидной или белковой компоненты мембран в процессе взаимодействия с металлами зависит от концентрации последних [3]. При высоких концентрациях кобальта и никеля проницаемость мембран изменяется из-за реакционноспособности липидов, при низких же концентрациях изменяется конформация аллостерических центров белков мембран. Однако в настоящее время достоверно неизвестно, с какими белками биомембран способны взаимодействовать ионы тяжелых металлов, и принимает ли участие в этих процессах один из основных компонентов мембран — стероид холестерин.

Для решения этого вопроса целесообразно использовать простые модели, например поверхностные пленки, позволяющие исследовать взаимодействие молекул белков и липидов с ионами тяжелых металлов, варьируя концентрацию последних в широких пределах. По изменению



свойств этих пленок можно составить определенное мнение о реакционной способности различных белков и липидов по отношению к ионам металлов. С этой целью в данной работе мы исследовали влияние ионов меди на свойства поверхностных пленок (монослоев) холестерина и различных белков: глобулярного актина, миозина, лизоцима и САЧ. Выбор этих белков объясняется следующими причинами. Актин- и миозиноподобные белки, сходные с соответствующими мышечными белками по величине молекулярного веса, аминокислотного состава и биологической активности, обнаружены в мембранной фракции многих немuscularных клеток [1]. Так например, актин немuscularных клеток способен обратимо полимеризоваться или деполимеризоваться, активировать миозиновую АТФазу, связываться с миозином и его энзиматически активными фрагментами [1]. Миозиноподобные белки немuscularного происхождения обладают АТФазной активностью. Локализация этих немuscularных белков в мембранных фракциях дает основание предположить, что поверхностные пленки, сформированные ими на жидких субфазах, содержащих физиологическую концентрацию ионов калия и натрия, дадут возможность выявить разницу в характере их взаимодействия с денатурирующими агентами по сравнению с поведением белков, не связанных с функционированием биомембран (таких как САЧ и лизоцим). САЧ, как и многие сывороточные белки, является переносчиком различных веществ в кровеносном русле, в частности ионов тяжелых металлов. К одной молекуле САЧ может присоединиться до 20 ионов меди, число которых может возрасти после облучения без заметных признаков денатурации [5]. Следовательно, реакционная способность САЧ в присутствии ионов меди в субфазе должна отличаться от таковой для монослоев миозина и лизоцима, ингибиторами которых является этот элемент. Для инактивации АТФазы миозина, согласно литературным данным, достаточно присутствие  $10^{-5}M$   $CuCl_2$  [7, 9], а лизоцима —  $10^{-3}$ — $10^{-2}M$  [12]. Следовательно, мы должны ожидать, что степень воздействия ионов меди на свойства монослоев белков должна уменьшаться в следующем порядке: САЧ < лизоцим < миозин. Данные о чувствительности молекул актина к ионам меди в доступной нам литературе отсутствуют, однако мы предполагаем, что она схожа с чувствительностью миозина.

Как отмечалось выше, холестерин является компонентом большинства известных биомембран, жесткость и проницаемость которых изменяется с концентрацией этого стероида. Данные о характере взаимодействия холестерина с ионами меди отсутствуют.

На проницаемость биомембран влияют не только колебания концентраций ионов тяжелых металлов во внутри- и внеклеточных жидкостях, но также и радиация. Поэтому мы исследовали эффекты как раздельного, так и суммарного влияния двух денатурирующих агентов: ионов меди и ионизирующего излучения.

## МАТЕРИАЛ И МЕТОДИКА

Измерение физических параметров монослоев проводилось на установке Ленгмюра с использованием поверхностных весов: вертикальных (весы Вилггельми) и горизонтальных (весы Адама).

Точность измерения поверхностного давления равна  $\pm 0,1$  *дин/см*. Растворы белков и липидов облучались на установках РУТ-11 и РУМ-7. Глобулярный актин получали из ацетоновой пудры по Штраубу [6], миозин по Сент-Дьердьи [4]. САЧ использовался фирмы Реанал (Венгрия), лизоцим—фирмы Реанал и Олайнского завода (СССР). Концентрацию белка определяли по методу микробюрета. Температура субфазы и воздуха в кабине поддерживалась постоянной. Субфазой для монослоев служили растворы KCl. (0,1 и 0,6 M).

На рис. 1 даны изотермы для всех исследованных нами препаратов, полученные при экспериментально подобранных оптимальных условиях. Кривые отличаются как по форме, так и по пределам изменений площадей монослоев при переходе их из газообразной фазы в конденсированную. Наименьшую площадь занимает монослой лизоцима и миозина. Это можно объяснить жесткой структурой их молекул и слабой способностью разворачивания полипептидных цепей в

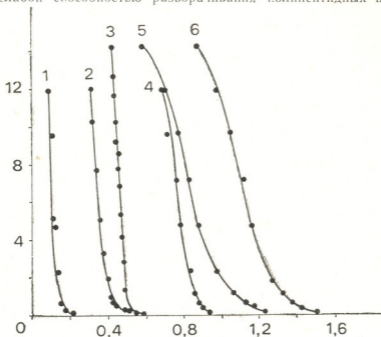


Рис. 1. Изотермы монослоев: 1—лизоцим; 2—миозин; 3—холестерин; 4—стеариновая кислота; 5—актин; 6—САЧ. Ось абсцисс—площадь монослоя,  $m^2/mg$ ; ось ординат — давление монослоя,  $дин/см$

процессе образования монослоев. Для получения стабильных пленок лизоцима и миозина необходимо соблюдать особые условия: использовать жидкие субфазы с высокой ионной силой или рН, близким к изоточке этих белков. К растворам белков перед формированием монослоев необходимо добавлять изоамиловый спирт, способствующий растеканию белка. Молекулы САЧ и актина легко образуют поверхностные пленки, которые занимают площадь в 4—5 раз больше, чем миозин, несмотря на то, что в наших опытах число молекул этих белков в монослое одного порядка ( $10^{13}$ — $10^{14}$ ). Это обстоятельство подтверждает предположение о сильном разворачивании полипептидных цепей молекул САЧ и актина на поверхности раздела фаз жидкость—жидкость. Их изотермы отличаются наличием выраженной области жидкой фазы, которая почти отсутствует у монослоев лизоцима, миозина и холестерина. Кроме характера фазовых переходов, форма изотермы дает информацию о механических свойствах монослоев, о которых можно судить по величине коэффициента минимальной сжимаемости [2]. Как видно из данных табл. 1 (столбец 2), среди белков наибольшим значением этого коэффициента характеризуются монослой актина и САЧ, наименьшим — миозин. Сжимаемость монослоев холестерина в 3—5 раз меньше, чем у всех исследованных нами бел-



ков. В табл. 1 суммированы результаты влияния ионов меди (столбцы 5—9) и ионизирующего излучения (столбцы 3 и 4) на величину площади монослоя. Облучение растворов белков (за исключением лизоцима) в дозе 10 Кл/кг вызывает уменьшение площади пленок по сравнению с контрольными пробами (необлученные растворы, субфаза не содержит ионы меди) на 6—20%. Наиболее чувствительными к ионам меди (концентрация  $10^{-6}$ — $10^{-5}$ М) в монослое являются молекулы актина и миозина. Рост концентрации меди в субфазе сопровождается пропорциональным уменьшением площади их пленок до 40—45% при  $10^{-3}$ М  $\text{CuCl}_2$  (табл. 1).

Таблица 1  
Влияние ионизирующего излучения и ионов меди на величину площади монослоев белков и холестерина

Исследуемое вещество	Коэффициент минимальной сжимаемости	Изменение площади монослоя (%) при облучении		Изменение площади монослоя (%) в присутствии ионов меди				
		Доза, 10 Кл/кг	Мощность А/кг	$10^{-6}$ М	$10^{-5}$ М	$10^{-4}$ М	$10^{-3}$ М	$10^{-2}$ М
Актин	0,0373 ±	-19,6	232	-17	-20,5	-32	-45,5	-40
	0,0007							
Миозин	0,0170 ±	-17,5	232	-12,5	-21	-31	-40	-3
	0,0020							
САЧ	0,0249 ±	-6,4	232	эффекта	нет	-12	-12	-11
	0,0006							
Лизоцим	0,0182 ±	-6,0	20	эффекта	нет	-22	-22	-23
	0,0010							
Холестерин	0,0067 ±	-11	20	эффекта	нет	-6	-6	—
	0,0001							

---уменьшение площади монослоя по сравнению с контролем (нет ионов меди и облучения); +- увеличение площади монослоя по сравнению с контролем

Концентрация  $10^{-6}$ — $10^{-5}$  М не оказывает достоверного влияния на свойства монослоев лизоцима, САЧ и холестерина. В интервале  $10^{-4}$ — $10^{-2}$  М площадь монослоев этих веществ уменьшается на 22, 12 и 6% соответственно.

Эффекты, вызванные воздействием ионизирующего излучения, существенно зависят от мощности дозы. Так например, при величине дозы, равной 10 Кл/кг, облучение растворов актина с интенсивностью 20 А/кг сопровождается уменьшением площади его монослоя примерно на 20% (рис. 2). Мощность дозы 232 А/кг при идентичных условиях опыта (концентрация и температура облучаемого раствора, длительность хранения препарата) вызывает увеличение площади на 6% (с достоверностью  $p < 0,001$ , рис. 2). Этот эффект сказывается также на результатах взаимодействия ионов меди с молекулами белков. При относительно слабой интенсивности (10 А/кг) облучение растворов усиливает адсорбцию ионов меди под монослой актина, приводящую, вероятно, к образованию комплекса актин-медь-актин. Так например, при добавлении к субфазе  $10^{-5}$   $\text{CuCl}_2$  уменьшение площади монослоя

необлученного и облученного в дозе 10 Кл/кг растворов актина равно —20,5 и —37% соответственно (рис. 2, кривые 1 и 2). При мощности дозы 232 А/кг облучение приводит к уменьшению влияния ионов меди (рис. 2, кривые 3 и 4). Аналогичный эффект наблюдался нами при работе с монослоями САЧ, когда увеличение мощности дозы примерно на 1 порядок не вызывало достоверного изменения площади монослоя (—1,5%; табл. 2).

Таблица 2  
Влияние величины и мощности дозы ионизирующего излучения на площадь монослоев САЧ и лизоцима (в % от контроля)

Белок	Мощность дозы			
	20 А/кг	232 А/кг		
	10 Кл/кг	10 Кл/кг	46 Кл/кг	97 Кл/кг
САЧ	—6,5	—1,5	—3	—4
Лизоцим	—	—6	—10	—

При постоянной мощности дозы характер влияния ионизирующего излучения с изменением величины дозы зависит от типа белка. В случае САЧ и лизоцима с ростом дозы от 10 до 97 Кл/кг наблюдается незначительное изменение площади (табл. 2). В опытах с холестерином при дозе 19 Кл/кг площадь уменьшается на 23%, а при дозе 77 Кл/кг увеличивается на 8%. Зависимость наблюдаемых эффектов от мощности дозы говорит о важной роли активных радикалов воды, образующихся в процессе облучения растворов белков.

Таблица 3  
Сравнение свойств и реакционной способности монослоев белков и холестерина

Величина площади монослоя, м <sup>2</sup> /мг	САЧ > актин > холестерин > миозин > лизоцим
Коэффициент минимальной сжимаемости, см/дин	актин > САЧ > миозин > лизоцим > холестерин
Степень влияния ионизирующего излучения, 10 Кл/кг	актин > миозин > холестерин > САЧ
Влияние ионов меди	актин > миозин > лизоцим > холестерин > САЧ

Результаты экспериментов, данные в табл. 3, подтверждают правильность наших предположений о том, что из исследованных белков наиболее чувствительны к воздействию радиации и ионов меди актин и миозин.

В нативных условиях колебания концентраций ионов меди, вероятно, на несколько порядков ниже рассмотренных нами. Дозы ионизи-

рующего излучения, могущие повлиять на свойства мембран, гораздо ниже. Однако на основании наших данных можно говорить о существенной разнице в поведении различных типов белков при нарушении нормальных физиологических условий функционирования клеток. Изменение концентрации ионов меди не ограничивается лишь их

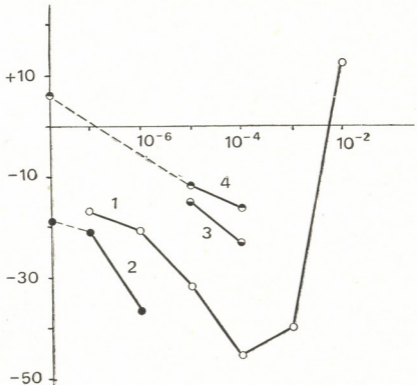


Рис. 2. Влияние ионизирующего излучения и ионов меди на величину площади монослоя глобулярного актина: 1—необлученный раствор актина; 2—10 Кка/кг; 20 А/кг; 3—необлученный раствор; 4—10 Кка/кг, 232 А/кг. Ось абсцисс—концентрация растворов КСl в субфазе в молях; ось ординат—изменение площади в % по отношению к контролю. Количество белка в монослое: кривые 1 и 2—0,016 мг, 3 и 4—0,060 мг

влиянием на эти белки. Проникнув из внеклеточного пространства в мембрану, они могут повлиять на многие ферментные системы, прикрепленные к межфазным поверхностям. Эти процессы, по нашим данным, усугубляются воздействием ионизирующего излучения.

ЛИТЕРАТУРА

1. Движение немышечных клеток и их компонентов (под ред. Г. М. Франка), Л., «Наука», 1977.
2. Егназарова А. Р., Надарейшвили К. Ш. Радиобиология, 13, 508—512, 1973.
3. Нарушевичус Э. Э., Тамулевичуте В. И., Заблоцкайте Д. П. Тез. докл. IV межд. конгр. биофизиков, М., 3, 1972, 251.
4. Сент-Дьерьди А. О мышечной деятельности, «Медгиз», М., 1947.
5. Ткач В. К., Френкель Л. А. Радиобиология, 6, 824—829, 1976.



6. Штрауб Ф. Б. Биохимия, Изд-во АН Венгрии, Будапешт, 1963.  
 7. Энгельгардт В. А., Любимова М. Н. Биохимия, 7, 205—209, 1962.  
 8. Brierley G. P., Settlementure C. T., Knight V. A. Arch. Biochem. Biophys., 126, 276—284, 1968.  
 9. Buttke H. Canad. J. Biochem., 49, 97—197, 1971.  
 10. Chiarandini D. J., Stefani E., Gerschenfeld H. M. Nature, 213, 97—99, 1967.  
 11. Donaldson J., St.—Pierol T., Minnich J., Barleac A. Canad. J. Biochem., 49, 1217—1224, 1971.  
 12. Mac Donall L. R., Feeney R. E., Ducasay E. D. Arch. Biochem. Biophys., 61, 72—83, 1956.  
 13. Rayan K. S., Davis J. M., Colbarn R. W., Jarks F. H. J. Neurochem., 19, 1099—1116, 1972.  
 14. Scott K. M., Hwang K. M., Jurvowitz M., Brierley G. P. Arch. Biochem. Biophys. 147, 557—567, 1971.  
 15. Vallee B. L., Ulmor D. D. Ann. Rev. Biochem., 41, 92—128, 1972.

იონიზაციის გამომწვევი გამოსხივების გავლენა მონოშრებებში სპილენძის იონთა ქოლესტერინთან და ცილებთან ურთიერთობაზე

ბ. თოფჩიშვილი, ნ. ნავროზაშვილი, ა. ეგიაზაროვა

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

რ ე ზ ი უ მ ე

შესწავლილ იქნა იონიზაციის გამომწვევი გამოსხივებისა (დოზები 10—97 კულონი/კილოგრამზე) და სპილენძის იონთა (კონცენტრაცია 10<sup>-6</sup>—10<sup>-2</sup> მოლი) გავლენა ცილებისა და ქოლესტერინის მონოშრებების თვისებებზე. გამოირკვა, რომ იონიზაციის გამომწვევი გამოსხივება (სიმძლავრე 20 ამპერი/კილოგრამზე) აძლიერებს სპილენძის იონებით გამოწვეულ ცილების მონოშრებების ფართობის შემცირების ეფექტს, ხოლო როდესაც დოზის სიმძლავრე შეადგენს 232 ამპერი/კილოგრამზე, პირიქით, ამ ეფექტს ასუსტებს.

ცდაში გამოყენებული ცილებიდან (აქტინი, მიოზინი, ლიზოციმი და ადამიანის შრატის ალბუმინი) დენატურაციის გამომწვევი აგენტების მიმართ ყველაზე უფრო მგრძობიარე აღმოჩნდა აქტინი და მიოზინი. სპილენძის იონებისა და იონიზაციის გამომწვევი რადიაციის ზემოქმედებისადმი ქოლესტერინი, ცილებთან შედარებით, გაცილებით უფრო ნაკლებ მგრძობიარეა.


THE EFFECT OF IONIZING RADIATION AND COPPER ION ACTION ON THE CHOLESTEROL AND PROTEIN MONOLAYERS

G. I. TOPCHISHVILI, N. M. NAVROZASHVILI, A. R. EGIJAROVA

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

S u m m a r y

The effects of copper ions (10<sup>-6</sup>—10<sup>-2</sup>M CuCl<sub>2</sub>) and ionizing radiation (10—97 C/kg) and their concurrent action on the properties of protein and lipid



monolayers were studied. The same doses of ionizing radiation with the power of 20 A/kg was shown to strengthen the effect of the lipid monolayer reduction elicited by the action of copper ions, while the power 232 A/kg, on the contrary, impaired it.

Among the studied proteins: actin, myosin, lysozyme and serum albumin—the most sensitive to the action of denatured agents appeared to be actin and myosin. Cholesterol was most stable to the action of ionizing radiation and copper ions.



УДК 576.312.231

МОЛЕКУЛЯРНАЯ БИОЛОГИЯ

## ОБ ЭФФЕКТЕ РИФАМИЦИНА И ЭКЗОГЕННОЙ ДНК НА ТРАСКРИПЦИЮ КЛЕТОЧНЫХ ЯДЕР И ХЛОРОПЛАСТОВ

Д. И. Джохадзе, М. И. Балашвили

*Институт биохимии растений АН ГССР, Тбилиси*

Поступила в редакцию 15.3.1979

Исследовали эффекты некоторых форм рифамицина на эндогенную РНК-синтезирующую активность интактных изолированных клеточных ядер и хлоропластов листьев гороха на фоне добавления к органеллам экзогенной гомологичной и негомологичной ДНК. Показано, что при добавлении к органеллам некоторых форм рифамицина (B, SV) в начале инкубации в определенных концентрациях наблюдается их подавляющее действие на синтез РНК в ядрах, а в хлоропластах они стимулируют процесс. Внесение в инкубационную смесь с органеллами экзогенных, особенно негомологичных, ДНК влечет за собой стимуляцию транскрипции. Особенно сильная стимуляция наблюдалась при добавлении животной ДНК. При инкубации ядер с экзогенной ДНК и добавлении рифамицина B в разное время от начала инкубации показано, что антибиотик проявляет свой эффект в начале транскрипции, а на элонгацию влияния не оказывает.

В исследованиях молекулярных механизмов функционирования генетической системы клетки успешно применяются различные антибиотики, специфически взаимодействующие с ДНК-матрицей или с ферментами, участвующими в процессах репликации, транскрипции и трансляции [1]. Из групп антибиотиков, используемых в исследованиях механизмов транскрипции, большое внимание уделяется рифамицину и его аналогам, получившим, кроме исследовательской практики, широкое распространение также при лечении таких бактериальных болезней, как туберкулез, инфекции, вызываемые нейссериями, и т. д.

Антибиотики группы рифамицина объединяет большое разнообразие сложных молекул, состоящих из хромофорного цикла и длинной замкнутой алифатической цепи, содержащей в своем составе нафтил; незначительная модификация этого алифатического макроцикла может отразиться на характере действия антибиотика [5]. Как выясняется, рифамицин влияет на процесс транскрипции, взаимодействуя с транскрибирующим ферментом, в частности (в случае бактериального фермента) с его частью, обозначаемой как минимальный энзим [1]. Показано также, что этот антибиотик действует на инициацию образования цепи РНК и не влияет на присоединение фермента к матрице или элонгацию цепи [6]. Исследуя эффект рифамицина на РНК-полимеразу, Верли и др. [7] пришли к выводу, что этот антибиотик подавляет функционирование бактериального фермента, тогда как на РНК-полимеразу млекопитающих влияния не оказывает. Боттомлей и др. [8] обнаружили, что один из дериватов рифамицина — SV — проявляет стимулирующее действие на эндогенную способность к синтезу РНК хлоропластов листьев гороха.



Ониши и Мураматсу [9] исследовали эффекты некоторых дериватов рифамицина, включая рифамид (0-октилосим 3-формилрифамицин SV и 4-N-бензил-2,5-диметилдиметилрифамицин), на активность ядрышко-вой (форма I или А) и кардиолазматической (форма II или Б) форм РНК-полимеразы, выделенных из печени крыс, и обнаружили, что изученные ими аналоги антибиотика подавляют действие обеих форм фермента. Такой эффект авторы объясняют возможностью действия антибиотика на стадии полимеризации рибонуклеотидов, по-видимому, в результате взаимодействия с молекулами фермента. Слабое ингибирование (~20%) рифамицином двух форм (А и Б) РНК-полимеразы эукариотов отмечают также Чамбон и др. [10].

В настоящей работе мы исследовали эффекты некоторых форм рифамицина на эндогенную РНК-синтезирующую активность интактных органелл клетки — изолированных ядер и хлоропластов листьев гороха. Определения способности упомянутых органелл к синтезу РНК проводились на фоне добавления экзогенной гомологичной и негомологичной ДНК. С целью выяснения вопроса взаимодействия экзогенной ДНК с генетической системой органелл препараты рифамицина добавляли в разное время от начала процесса транскрипции.

## МЕТОДИКА

Источником ядер и хлоропластов служили молодые 10-дневные растения гороха (*Pisum sativum*), выращенные в лабораторных условиях. Органеллы выделяли по методу, описанному в работе [3]. Препараты ДНК из ядер и хлоропластов выделяли фенольным методом [2], используя в качестве детергента ПАСК и додецилсульфат натрия. Препараты ДНК тщательно депротеинизировали фенолом, дополнительно очищали РНК-азой и проназой, переосаждали изопропанолом. В опытах использовали ДНК в виде растворов в 0,1 ССЦ (1 ССЦ — 0,15 М NaCl + 0,015 М Na<sub>2</sub>-цитрат). Концентрацию ДНК определяли спектрофотометрически при 260 нм, принимая 1 с. е. за 50 мкг/мл. Содержание ДНК в органеллах определяли по Спирину [4] после удаления с помощью 5%-ного HClO<sub>4</sub> смеси этанол-хлороформ (3:1) и эфира низкополимерных примесей и липидов.

Способность органелл к синтезу РНК определяли путем их инкубации в среде следующего состава (конечный объем — 0,3 мл): трис-HCl, рН 8,3 — 50 мкм; MgCl<sub>2</sub> — 7,5 мкм; АТФ, ГТФ, ЦТФ — по 0,1 мкм; C<sup>14</sup>-УТФ (ЧССР, удельная активность 300 мкКи/ммоль) — 0,0013 мкм; β-меркаптоэтанол — 0,004 мкм; ядра или хлоропласты, соответствующие 10—100 мкг ДНК. Пробы с ядрами инкубировали при 35°C, а с хлоропластами — при 25°C [3] в течение 20 мин. Реакцию останавливали охлаждением и прибавлением 5 мл холодной 5%-ной ТХУ, содержащей 0,2 М пиррофосфата натрия. После выдерживания проб на холоде в течение 20 мин собирали осадки на мембранные фильтры (NUFS, размер пор 0,2—0,3 мкм), три раза промывали в воронке 5 мл порциями 5%-ной ТХУ с пиррофосфатом. После высушивания подсчитывали радиоактивность на сцинтилляционном счетчике SL-30 (Франция). По величине радиоактивности судили об уровне синтеза РНК в данной пробе. В таблицах приведены значения радиоактивности двух параллельных проб (проценты высчитаны из средних значений) с пересчетом на ДНК.

## РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

В опытах по влиянию рифамицина на эндогенную способность к синтезу РНК изолированных ядер и хлоропластов гороха было обна-

ружено, что используемый нами препарат — рифамицин В (фирма Calbiochem) при добавлении в среду в начале инкубации проявляет неодинаковый эффект на ядра и хлоропласты: в ядрах наблюдается подавление процесса транскрипции, а в хлоропластах — заметная стимуляция. Для получения более ясной картины были испытаны разные

Таблица 1  
Влияние разных форм рифамицина на способность РНК изолированных клеточных ядер и хлоропластов листьев гороха к синтезу

Инкубационная смесь	Радиоактивность, <i>имп/мин</i>			
	Ядра соответ- вуют 37 мкг ДНК	%	Хлоропласты соответствуют 14 мкг ДНК	%
Полная смесь	1825	100	1588	100
(Контроль)	1903		1634	
То же + 100 мкг рифамицина В	1446 1378	75	2026 2114	128
То же + 100 мкг рифамицина SV	1272 1208	66	1960 1991	122
То же + 100 мкг рифамицина (неизвестной марки)	1582 1493	82	1258 1304	79

формы рифамицина. Из табл. 1, в которой приведены результаты этих опытов видно, что, подобно рифамицину В, рифамицин SV также инги-

Таблица 2  
Влияние гомологичной и негомологичной ДНК на РНК-полимеразную активность клеточных ядер и хлоропластов листьев гороха<sup>1</sup>

Инкубационная смесь	Радиоактивность, <i>мин/имп</i> на 100 мкг ДНК			
	Ядра	%	Хлоропласты	%
Полная смесь (контроль)	1043 1096	100	10768 10212	100
То же + 10 мкг ДНК ядер листьев гороха	1204 1187	111	12728 13040	122
То же + 10 мкг ДНК хлоропластов	1306 1509	131	11404 11828	110
То же + 10 мкг ядер печени крысы	2093 1620	173	16740 15688	154

<sup>1</sup> Ядра инкубировались при 35°C, хлоропласты — при 25°C

бирует синтез РНК в ядрах, а в хлоропластах вызывает стимуляцию; рифамицин же в обоих случаях подавляет транскрипцию. Такой неодинаковый эффект разных форм рифамицина на эндогенную способность ядер и хлоропластов к синтезу РНК можно объяснить различием между РНК-полимеразами этих органелл, поскольку, как отмечалось, рифамицин взаимодействует с транскрибирующим ферментом.



Институт микробиологии  
и вирусологии  
Академии наук СССР

Для получения более определенных сведений о влиянии рифамицина В на стадии транскрипции было исследовано действие этой формы антибиотика на РНК-полимеразную систему ядер и хлоропластов до начала инкубации (в разное время). При этом до начала инкубации к органеллам добавлялись экзогенные гомологичные и негомологичные ДНК.

Таблица 3

Влияние экзогенной ДНК на РНК-полимеразную активность ядер и хлоропластов листьев гороха при инкубации хлоропластов при 25° и 35°С

Инкубационная смесь	Радиоактивность, <i>имп/мин</i> на 100 <i>мкг</i> ДНК			
	Ядра	%	Хлоропласты	%
Полная смесь (контроль)	1906	100	6320	100
	1865		7958	
То же +10 <i>мкг</i> ДНК ядер листьев гороха	2220	112	8400	119
	2047		8519	
То же +10 <i>мкг</i> ДНК хлоропластов	2363	127	7835	109
	2455			
То же +10 <i>мкг</i> ДНК печени кролика	3257	171	10968	154
	3220		11111	
То же +10 <i>мкг</i> ДНК ядер печени кролика (пробу инкубировали только при 35°С)	—	—	11800	163
			11605	

Результаты, полученные в опытах с добавлением экзогенных препаратов ДНК, приведены в табл. 2. Видно, что при присоединении экзогенной ДНК как в ядрах, так и в хлоропластах происходит стимуляция синтеза РНК, но она гораздо сильнее при добавлении негомологичной ДНК. При присоединении к ядрам листьев гороха ДНК тех же органелл интенсивность транскрипции возрастает на 11%, а при добавлении ДНК хлоропластов — на 31%. В хлоропластах при добавлении своей же ДНК транскрипция стимулируется на 10%; а при присоединении ДНК ядер листьев — на 22%. Однако и в ядрах и в хлоропластах при добавлении животной ДНК (печень кролика) наблюдается гораздо более сильная стимуляция (на 73 и 54% соответственно).

В другой серии опытов (табл. 3) с добавлением экзогенных ДНК получены результаты, аналогичные табл. 2. При добавлении к хлоропластам животной ДНК установлено, что их РНК-полимеразная активность в максимальной степени проявляется не при 25°С, как было ранее установлено для этих органелл [3], а при 35°С, как это характерно для ядер растительных и животных клеток.

Этот факт свидетельствует о значении ДНК-матрицы в определении особенностей функционирования РНК-синтезирующей системы и заслуживает специального исследования.

В табл. 4 приведены результаты внесения рифамицина В на разных стадиях транскрипции ядер на фоне добавления экзогенных препаратов ДНК.

Из таблицы видно, что добавление 100 *мкг* антибиотика в начале инкубации влечет за собой подавление эндогенного синтеза РНК при 266



количестве ядер, соответствующих как 100 мкг ДНК, так и 45 мкг ДНК. Добавление к ядрам 15 мкг ДНК печени крысы в начале инкубации сильно (на 53—58%) стимулирует транскрипцию. Если одновременно с 15 мкг ДНК к ядрам добавить 100 мкг рифамицина В, интенсивность транскрипции практически не меняется; а если антибиотик добавить через 2 мин после начала инкубации, наблюдается стимуляция синтеза РНК. Еще больше возрастает интенсивность процесса, если в пробы, содержащие экзогенную ДНК, антибиотик добавить через 8 и 15 мин от начала инкубации.

Таблица 4  
Влияние рифамицина В на РНК-полимеразную активность изолированных ядер листьев гороха на фоне экзогенной ДНК

Инкубационная смесь	Радиоактивность, <i>имп/мин</i>			
	Ядра, соответствующие 100 мкг ДНК	%	Ядра, соответствующие 45 мкг ДНК	%
Полная смесь (контроль)	2999	100	1341	100
	3126		1543	
То же+100 мкг рифамицина В в начале инкубации	2330	77	1107	72
	2383			
То же+15 мкг ДНК печени крысы	4563	153	2310	158
	4818		2251	
То же+15 мкг печени крысы+100 мкг рифамицина В в начале инкубации	3184	106	1588	103
	3367		1400	
То же+15 мкг ДНК печени крысы+100 мкг рифамицина В через 2 мин от начала инкубации	3595	121	2004	138
	3851		1983	
То же+15 мкг ДНК печени крысы+100 мкг рифамицина В через 8 мин от начала инкубации	4017	133	2190	153
	4134		2245	
То же+15 мкг ДНК печени крысы+100 мкг рифамицина В через 15 мин от начала инкубации	4769	145	2400	151
	4231		1975	

Таким образом, рифамицин В проявляет свое действие только тогда, когда он вносится в РНК-полимеразную систему с ядрами в начале инкубации. Далее антибиотик не оказывает влияния — проявляет свое стимулирующее действие добавление экзогенной ДНК. Это свидетельствует о том, что рифамицин В действует на стадии инициации транскрипции, а на другие стадии не оказывает влияния даже в присутствии экзогенной ДНК.

#### ЛИТЕРАТУРА

1. Ашмарин И. П. Молекулярная биология, Изд-во ЛГУ, Л., 1977.
2. Георгиев Г. П. В сб.: Химия и биохимия нуклеиновых кислот, «Медицина», Л., 1968, 112—115.
3. Джохадзе Д. И., Балашвили М. И. Биохимия, 41, 161—166, 1976.
4. Спири А. С. Биохимия, 23, 656—663, 1958.



5. Wehrli W., Staehelin M. Biochem. Biophys. Acta, **182**, 24—29, 1969
6. Wollgien R. In: «Nucleic acids and proteins in higher plants». Budapest, 1972.
7. Wehrli N., Weusch T., Kneusel F., Stochelm M. Biochim. Biophys. Acta, **157**, 215—217, 1968.
8. Bottomley N., Whitfield P. R., Spencer D. Arch. Biochem. Biophys., **151**, 35—41, 1972.
9. Onishi T., Muramatsu M. Biochem. J., **128**, 1361—1364, 1972.
10. Chambon P., Gissinger F., Mandall T. L., Kedingger T. C., Gniazdowski M., Meihlac M. Cold Spring Harb. Symp. Quat. Biol., **35**, 1970, 693.

**რიფამიცინისა და ეგზოგენური დნმ-ის ეფექტი უჯრედთა ბირთვებისა და ქლოროპლასტების ტრანსკრიფციაზე**

დ. ჯოხაძე, მ. ბალაშვილი

საქართველოს სსრ მეცნიერებათა აკადემიის მეცნიერთა ბოქიების ინსტიტუტი, თბილისი  
რ ე ზ ი მ ე

გამოკვლევულ იქნა სხვადასხვა ფორმის რიფამიცინის გავლენა ბარდის ფოთლების უჯრედთა ინტაქტურ ბირთვებსა და ქლოროპლასტებში ენდოგენურ რნმ-მასინფორმებულ აქტივობაზე, როცა ორგანელებს ვამატებდით ჰომოლოგიურ და არაჰომოლოგიურ დნმ-ს. აღმოჩნდა, რომ თუ ინკუბაციის დასაწყისში ორგანელებზე განსაზღვრული კონცენტრაციის სხვადასხვა ფორმის რიფამიცინით (B, SV) ემოქმედებთ, ბირთვებში რნმ-ის სინთეზი ითრგუნება, ხოლო ქლოროპლასტებში პროცესი სტიმულირდება. საინკუბაციო არეში ეგზოგენური, განსაკუთრებით არაჰომოლოგიური დნმ-ის შეყვანა იწვევს ტრანსკრიფციის სტიმულაციას. სტიმულაცია განსაკუთრებით ძლიერია ცხოველური დნმ-ის გავლენით. გამოირკვა, რომ როცა ბირთვების ინკუბაციისას ეგზოგენურ დნმ-სა და რიფამიცინ β-ს ინკუბაციის დაწყებიდან სხვადასხვა დროს ვამატებთ, ანტიბიოტიკი გავლენას ახდენს მხოლოდ ტრანსკრიფციის დასაწყისში, ხოლო შემდეგ, ელონგაციის სტადიაში, გავლენა აღარ ჩანს.

**ON THE EFFECT OF RIFAMYCIN AND EXOGENOUS DNA ON THE TRANSCRIPTION OF CELL NUCLEI AND CHLOROPLASTS**

D. I. JOKHADZE, M. I. BALASHVILI

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

**S u m m a r y**

The effect of some forms of rifamycin on the endogenous RNA-synthesizing activity of the intact isolated cell nuclei and chloroplasts from pea leaves during the addition of exogenous homologous and nonhomologous DNA to organelles was studied. It was shown, that at the beginning of incubation on addition of some forms of rifamycin (B, SV) to organelles at certain concentrations RNA synthesis is inhibited in nuclei, while it is stimulated in chloroplasts.

The addition of exogenous and particularly nonhomologous DNA to the incubation mixture containing organelles stimulated transcription. Stimulation was found to be especially high on the addition of animal DNA. During the incubation of nuclei with exogenous DNA and on addition of rifamycin B at various intervals of incubation the antibiotic reveals its effect at the beginning of transcription, without further effect on elongation.

УДК 581.481.483.495.8

КРАТКИЕ СООБЩЕНИЯ

## АНАТОМИЧЕСКОЕ СТРОЕНИЕ СЕМЯН НЕКОТОРЫХ ВИДОВ НАПЕРСТЯНОК

Н. А. Анели, Ц. П. Сулаквелидзе

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

Поступила в редакцию 29.11.1978

Растения рода наперстянки содержат карденолиды — радикальные средства при расстройствах сердечно-сосудистой системы, богаты

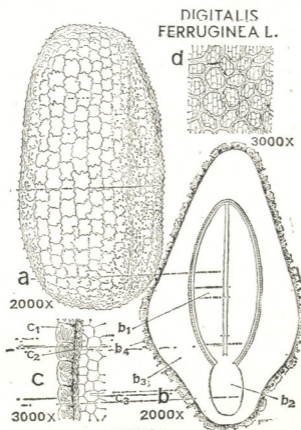


Рис. 1. Наперстянка ржавая: а—общий поверхностный узор кожуры; б—продольный разрез семени с ориентировкой строения зародыша; б<sub>1</sub>—семядоли; б<sub>2</sub>—корневой зачаток; б<sub>3</sub>—эндосперм; б<sub>4</sub>—кожура; в—поперечный разрез кожуры; с<sub>1</sub>—орнаментальная перепонка; с<sub>2</sub>—деформированный слой кожуры; с<sub>3</sub>—эндосперм; d—кожура с поверхности, видны крупные ребристые ячейки и мелкоячеистая перепонка

они также стероидными сапонинами. Семена наперстянок являются единственным источником сапонина — дигитонина, широко применяемого для выделения, а также качественного и количественного анализа некоторых природных соединений [1].

В институте фармакохимии им. И. Г. Кутателадзе АН ГССР разработаны оригинальные способы получения дигитонина и налажено его производство [2].

С целью идентификации растительного сырья дигитонина — семян наперстянок — необходимо проведение анатомических исследований. Последнее провели на семенах растений наперстянки ржавой (*Digitalis ferruginea* L.), наперстянки пурпуровой (*D. purpurea* L.) и наперстянки реснитчатой (*D. ciliata* Trautv.).

### DIGITALIS PURPUREA L.

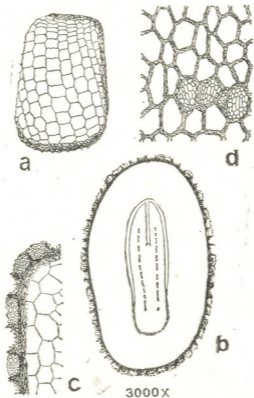


Рис. 2. Наперстянка пурпуровая. (обозначения те же, что на рис. 1)

Семена эти с твердой и толстой кожурой, очень мелкие (от 0,7 до 1,6 мм длины и 0,4—0,7 мм ширины).

Для изучения анатомического строения предприняли специальную обработку семян (применяли спирты возрастающей крепости, ксилол с последовательным возрастанием количества смеси парафина с пчелиным воском 100:14:1), а также подготовили их к серийным срезам на микротоме (толщина срезов 15 мк).

После покрытия покровным стеклом препараты рассматривались в стереомикроскопе МБС-2 при больших увеличениях (об. 7, ок. 12,5), биологическом микроскопе МБИ-3 и микропроекторе МПР-1.



Ввиду того, что семена очень мелкие, их ориентировка по определенным плоскостям чрезвычайно трудна: в парафин+воск закладывались их большое количество — в надежде найти удачные продольные и поперечные срезы. После рассмотрения препаратов в микроскопах делались зарисовки (рис. 1—3) с использованием рисовального аппарата РА-5.

**DIGITALIS CILIATA TRAUTV.**

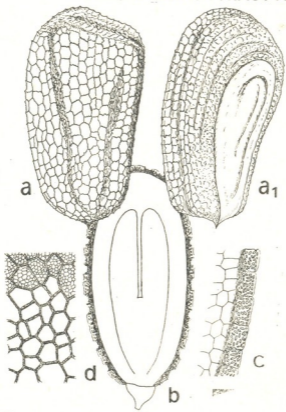


Рис. 3. Наперстянка реснитчатая (обозначения те же, что на рис. 1)

На рис. 2 в увеличенном виде показаны аналогичные части семени наперстянки пурпуровой, а на рис. 3 те же части наперстянки реснитчатой.

При сравнении изображений семян наперстянок всех трех видов, несмотря на большую разницу в общем размере, наблюдаются как схожие, так и отличительные признаки. Общий габитус зародыша семени более сильно дифференцирован у наперстянки ржавой, отстают у н. пурпуровой; н. реснитчатая занимает среднее положение. Эндоспермы более мощно развиты у наперстянок пурпуровой и ржавой. Некоторое отличие видового характера наблюдается в рисунке орнаментальной перепонки кожуры семян.

**ЛИТЕРАТУРА**

1. Кемертелидзе Э. П. Химическое исследование наперстянки реснитчатой, «Мешинереба», Тбилиси, 1977.
2. Кемертелидзе Э. П., Сулаквелидзе Ц. П., Деканосидзе Г. Е., Гвазава Л. Н. Способ получения дигитонина. Авт. свид. № 668685, БИ, 23, 1979, 15.

ნ. ანელი, ც. სულაკველიძე

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

### რ ე ზ ი უ მ ე

საპონინ დიგიტონინის მისაღებად ერთადერთ წყაროს წარმოადგენენ სა-  
თითურას თესლები. ჩატარდა სათითურების (ქანგოვანა — *Digitalis ferrugi-  
nea*, ძოწი — *D. purpurea* და წამწამოვანი — *Digitalis ciliata*) თესლების ანა-  
ტომიური გამოკვლევა. თესლებში ჩანასახის ჰაბიტუსი უფრო მეტად არის დი-  
ფერენცირებული ქანგოვანა სათითურაში, მეტად ჩამორჩება ძოწიში, ხოლო  
წამწამოვანში შუალედური მდგომარეობაა. ენდოსპერმები უფრო მძლავრად  
არის განვითარებული ძოწიში და ქანგოვანაში. სახეობრივი განმასხვავებელი  
ნიშნები შეინიშნება თესლის ტყავის ორნამენტალური აპკის აგებულებაში.

## THE ANATOMICAL STRUCTURE OF SEEDS OF SOME SPECIES OF DIGITALIS

N. A. ANELY, Ts. P. SULAKVELIDZE

I. G. Kutateladze Institute of Pharmacochemistry,  
Georgian Academy of Sciences, Tbilisi, USSR

### S u m m a r y

The seeds of *Digitalis* are the only source of saponin digitonin. For the  
purpose of diagnostics anatomical study was made of *Digitalis* seeds, namely  
of *D. ferruginea* L., *Digitalis purpurea* L., *Digitalis ciliata* L. The habitus of  
seed embryo of *D. ferruginea* is more differentiated than that of *D. purpurea*.  
*Digitalis ciliata* keeps the medium position. The endosperms of *Digitalis*  
*purpurea* L. and *Digitalis ferruginea* L. are more developed.

In the design of the rind of the seed some species distinctions are  
observed.

УДК 612.822.1:547.751]—087.4

КРАТКИЕ СООБЩЕНИЯ

## ЗАХВАТ ДОФАМИНА И СЕРОТОНИНА КЛЕТКАМИ ГЛИИ И СИНАПСОСОМАМИ КОРЫ ГОЛОВНОГО МОЗГА КРОЛИКА

Т. А. Баханашвили, Н. И. Майсов, Н. Г. Алексидзе

Тбилисский государственный университет,  
Институт фармакологии АНМ СССР, Москва

Поступила в редакцию 11.1.1979

В настоящей работе проведено сравнительное изучение захвата дофамина и серотонина изолированными нервными окончаниями и глиальными клетками при действии некоторых психотропных препаратов.

Выделение фракций, обогащенных глиальными клетками, осуществляли по методу Роуза [5] в модификации Н. Г. Алексидзе и соавторов [1]. Суммарную фракцию синапсомом получали по методу Грэй и Уиттэйкера [3] в модификации В. В. Шевцова и соавторов [2].

Таблица  
Влияние фармакологических веществ на захват дофамина и серотонина синапсомомами и клетками глии головного мозга кролика

Вещество	Концентрация, мкМ	Захват дофамина-Н <sup>3</sup> (в % к контролю)*		Захват серотонина-С <sup>14</sup> (в % к контролю)	
		Синапсомомы	Клетки глии	Синапсомомы	Клетки глии
Контроль		100±10	100±10	100±10	100±10
Аминазин	50	48±8	48±6	24±3	24±7
	500		—	4±1	11±1
Трифлуперидол	50	58±6	57±7	36±8	59±5
	500	17±4	—	8±4	13±4
Имипрамин	50	59±7	57±6	6±2	20±3
	500	21±2	—	4±1	12±4
Кокаин	50	37±4	54±6	12±2	26±1
	500	20±3	44±5	8±1	14±3

Примечание: В таблице приведены средние величины захвата и их доверительные интервалы ( $P=0,05$ ) по отношению к контролю (данные 5—7 измерений)

\* 100%-ный контроль— $1,4 \cdot 10^{-2}$  нМ в синапсомомах,  $0,7 \cdot 10^{-2}$  нМ в глии связанного дофамина за 20 мин на мкг белка соответственно

\*\* 100%-ный контроль—80 нМ в синапсомомах, 45 нМ в глии связанного серотонина на мкг белка соответственно

Захват дофамина-Н<sup>3</sup> или серотонина-С<sup>14</sup> глиальными клетками или синапсомомами (0,25 мкг белка в 1 мл) определяли в среде инку-

бации, содержащей 100 мМ NaCl, 6 мМ KCl, 2 мМ CaCl<sub>2</sub>, 3 мМ MgCl<sub>2</sub>, 10 мМ глюкозы, 100 мМ сахарозы, 30 мМ трис-фосфатного буфера рН—7,4, при непрерывном встряхивании в течение 20 мин и 37°C. В опытах использовались смеси радиоактивного и нерадиоактивного моноамина в молярном соотношении 1:1000. Реакцию останавливали охлаждением проб до 0—4°C. После центрифугирования (20000 g 15 мин,

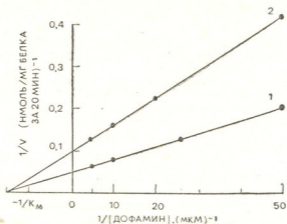


Рис. 1. Кинетика захвата дофамина-Н<sup>3</sup> глиальными клетками и синапсомы коры мозга кролика (график Лайнуивера-Бэрка, данные 5—7 опытов): 1—захват дофамина-Н<sup>3</sup> синапсомы; 2—захват дофамина-Н<sup>3</sup> глиальными клетками

0—4°C) осадки дважды промывали холодной средой инкубации (без изотопа) и растворяли в 10%-ном тритоне X-100 (в 1 мл в случае дофамина и в 0,3 мл в случае серотонина). Определенное количество полученного раствора (0,2 мл в случае дофамина и 0,1 мл в случае серотонина) добавляли к 10 мл сцинтилляционной жидкости, содержащей

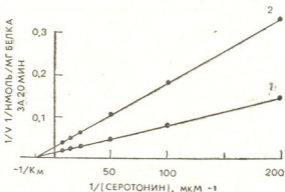


Рис. 2. Кинетика захвата серотонина-С<sup>14</sup> глиальными клетками и синапсомы коры мозга кролика (график Лайнуивера-Бэрка, данные 5—7 опытов): 1—захват серотонина-С<sup>14</sup> синапсомы; 2—захват серотонина-С<sup>14</sup> глиальными клетками

3 мл этанола, 7 мл толуола, 0,5% 2,5-дифениллоксазола (РРО) и 0,01% 1,4-бис-(2—5-фениллоксазил)-бензола (РОРОР). Радиоактивность измеряли с помощью сцинтилляционного счетчика Mark I, фирмы «Nuclear-Chicago». Белок определяли по Лоури [4].



Изучение сорбции дофамина и серотонина в 0,32 М сахарозе при 0°C без инкубации служило контролем. При 0°C наблюдается линейная зависимость сорбции моноамина от его концентрации. Вычитанием этой величины из общего количества аккумулированного моноамина при 37°C получаем истинную кривую захвата моноамина за 20 мин. Полученные данные в координатах Лайнувера и Бэрка представлены на рис. 1 и 2. Из рис. 1 видно, что константа Михаэлиса ( $K_m$ ) захвата дофамина как синапсосомами, так и глиальными клетками равна  $0,075 \pm 0,001$  мкМ. В случае серотонина (рис. 2) эта величина как для синапсосомального, так и для глиального захвата равна  $0,083 \pm 0,002$  мкМ. Судя по максимальной скорости захвата ( $V_{max}$ ) синапсосомы коры головного мозга кролика захватывают дофамин или серотонин примерно в 2 раза быстрее, чем глиальные клетки, если сравнивать скорости захвата по белку.

В дальнейшей серии опытов было исследовано влияние психотропных веществ на синапсосомальный и глиальный захват дофамина и серотонина. Установлено, что психостимулятор кокаин активно подавляет захват дофамина. Наиболее выраженный ингибирующий эффект как на синапсосомальный, так и на глиальный захват серотонина оказывают трициклический антидепрессант имипрамин и психостимулятор кокаин. Известно, что имипрамин вызывает избирательное, а М-антагонист серотонина — кокаин — конкурентное ингибирование серотонина. Физиологический смысл полученных результатов, по всей вероятности, состоит в том, что угнетение обратного захвата способствует увеличению концентрации дофамина или серотонина в синаптической щели и усилению их постсинаптического эффекта. Это создает возможность направленной регуляции уровня моноамина в условиях функциональных расстройств головного мозга.

ЛИТЕРАТУРА

1. Алексидзе Н. Г., Ахалкаци Р. Г., Балавадзе М. В., Дolidze Н. И. Сообщения АН ГССР, 75, 701—703, 1974.
2. Шевцов В. В., Поздняков О. М., Мусин И. И., Глебов Р. Н. Бюлл. exper. биол., 1, 94—97, 1972.
3. Gray E. G., Whittaker V. P. J. Anatomy, 96, 79—88, 1962.
4. Lowry O. H., Rosebrough N. J., Faar A. L., Randall R. J. J. Biol. Chem., 193, 1, 265—275, 1951.
5. Rose S. P. R. Biochem. J., 102, 33—43, 1967.

ბოცვერის თავის ტვინის ქერქის სინაპტოსომებისა და სინაპტოსომების მიერ დოფამინისა და სეროტონინის შთანთქმა

თ. ბახანაშვილი, ნ. მაისოვი, ნ. ალექსიძე

თბილისის სახელმწიფო უნივერსიტეტი, სსრკ მედიცინის მეცნიერებათა აკადემიის ფარმაკოლოგიის ინსტიტუტი, მოსკოვი

რ ე ზ ი უ მ ე

შესწავლილ იქნა ბოცვერის თავის ტვინის ქერქის სინაპტოსომებისა და გლიური უჯრედების მიერ  $H^3$ -დოფამინისა და  $C^{14}$ -სეროტონინის შთანთქმა. კინეტიკური გამოკვლევებით გამოირკვა, რომ სინაპტოსომებისა და გლიურა უჯრედების მიერ დოფამინის შთანთქმის დროს მიხელების მუდმივა არის



0,075±0,001 მკმ, ხოლო სეროტონინისათვის ეს სიდიდე 0,083±0,002 მკმ-ის ტოლია. ბოცვერის თავის ტვინის ქერქის სინაპტოსომები, გლიურ უჯრედებთან შედარებით, ორჯერ უფრო სწრაფად შთანთქავენ დოფამინსა და სეროტონინს.

შესწავლილ ფსიქოტროპულ ნივთიერებათაგან დოფამინის შთანთქმას ყველაზე აქტიური ფსიქოსტიმულატორი კოკაინი აკაეებს, ხოლო სეროტონინის შთანთქმას — როგორც კოკაინი, ისე ტრიციკლიური ანტიდეპრესანტი იმიპრამინი.

UPTAKE OF DOPAMINE-H<sup>3</sup> AND SEROTONIN-C<sup>14</sup> BY GLIAL CELLS AND SYNAPTOSOMES OF RABBIT CEREBRAL CORTEX

T. A. BAKHANASHVILI, N. I. MAISOV, N. G. ALEKSIDZE

State University, Tbilisi, USSR, Institute of Pharmacology of the USSR Academy of Medical Sciences, Moscow

S u m m a r y

The uptake of dopamine-H<sup>3</sup> and serotonin-C<sup>14</sup> by glial cells and synaptosomes of the rabbit cerebral cortex was studied. The K<sub>m</sub> value of dopamine-H<sup>3</sup> and serotonin-C<sup>14</sup> uptake turned out equal to 0.075±0.001μM and 0.083±±0.002 μM both for synaptosomes and glial cells. The uptake of dopamine-H<sup>3</sup> and serotonin-C<sup>14</sup> by synaptosomes of the rabbit cerebral cortex is twice as fluent as that of the glial cells (comparison of the uptake speeds made on protein).

УДК 576.3.087.347

КРАТКИЕ СООБЩЕНИЯ

## О ВОЗМОЖНЫХ ИСКАЖЕНИЯХ РЕЗУЛЬТАТОВ В РАДИОАВТОГРАФИЧЕСКИХ ИССЛЕДОВАНИЯХ

А. А. Козлов, Г. Д. Туманишвили

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

Поступила в редакцию 27.2.1979

Метод радиоавтографии широко используется во многих биологических исследованиях. При этом применяют метки разной природы ( $H^3$ ,  $C^{14}$ ,  $P^{32}$ ,  $S^{35}$  и т. п.). Особенно охотно используют радиоавтографию для изучения всех вопросов, касающихся клеточной пролиферации. По сути, для измерений длительности клеточного цикла, его отдельных фаз, величины пролиферативного пула, кинетики клеточных популяций и других в нынешнее время пользуются лишь радиоавтографией, вытеснившей все остальные методы исследования пролиферации клеток. Естественно, цитологи с самого начала ощущали необходимость всестороннего изучения влияния на клетки введения радиоактивных предшественников.

Целым рядом авторов было установлено, что введение в организм или культивационную среду  $H^3$ -тимидина, особенно популярного среди цитологов, приводит к различного рода радиационным нарушениям, например к хромосомным aberrациям, гибели клеток, задержке вступления в митоз, перескакиванию клеток из фазы  $G_2$  в фазу  $G_1$  (или  $G_0$ ) следующего митоза и пр. [1, 2]. Поскольку упомянутые нарушения отмечались при воздействии на клетки относительно высоких активностей ( $\geq 2$  мкКи  $\cdot$   $г^{-1}$  или на 1 мл среды), они легко могли быть устранены уменьшением активностей, используемых в опытах. В настоящее время принято, что умеренные дозы  $H^3$ -тимидина ( $0,5-1,0$  мкКи  $\cdot$   $г^{-1}$ ) не вызывают сколько-нибудь опасных последствий.

Однако в последнее время было показано, что даже сверхмалые дозы облучения, сравнимые с естественным фоновым облучением, могут приводить к ускорению деления клеток. Действительно, экранируя культуру инфузорий *Colpoda* или облучая ее сверхмалыми дозами проникающей радиации, удавалось соответственно увеличивать или уменьшать длительность цикла одноклеточных организмов. Наблюдаемый эффект был весьма существенным, что дало основание предположить запуск триггерного механизма деления именно частицами проникающего излучения [3, 4].

Хотя упомянутые результаты получены на инфузориях, можно думать, что проникающее излучение оказывает аналогичное влияние и на клетки многоклеточных организмов — стимулирующее воздействие малых доз облучения в радиобиологических экспериментах на многоклеточных организмах общеизвестно. В таком случае, описанный эффект может соответствующим образом повлиять на результаты любого радиоавтографического исследования. Ниже приводятся расчеты (для  $H^3$  и  $C^{14}$ ), подтверждающие высказанное предположение.

Доза, поглощенная объектом, зависит как от вводимой активности, так и от энергии продуктов распада используемого изотопа. Подсчитаем мощность дозы, получаемой объектом при введении активности в  $1 \text{ мкКи} \cdot \text{г}^{-1}$  для двух изотопов:  $\text{H}^3$  и  $\text{C}^{14}$ .

Как известно, оба изотопа  $\beta$ -активны, причем энергии электронов распада равны соответственно:

$$E_{\text{H}}^{\text{max}} = 1,8 \cdot 10^4 \text{ эв}; \quad E_{\text{C}}^{\text{max}} = 1,55 \cdot 10^5 \text{ эв}.$$

Активности в  $1 \text{ мкКи}$  соответствует  $3,7 \cdot 10^4$  распадов  $\cdot \text{с}^{-1}$ . Если принять, что объектом поглощаются полностью все продукты распада (а при данных энергиях пробег электронов столь мал, что это допущение справедливо), то полное энерговыделение в объекте будет равно:

$$\text{для } \text{H}^3 \quad E_{\text{полн}} = 6,6 \cdot 10^8 \text{ эв} \cdot \text{г}^{-1} \cdot \text{с}^{-1},$$

$$\text{для } \text{C}^{14} \quad E_{\text{полн}} = 5,7 \cdot 10^9 \text{ эв} \cdot \text{г}^{-1} \cdot \text{с}^{-1}.$$

Это соответствует поглощенным мощностям дозы:

$$P_{\text{H}} \approx 1,05 \cdot 10^{-5} \text{ рад} \cdot \text{с}^{-1},$$

$$P_{\text{C}} \approx 9,10 \cdot 10^{-5} \text{ рад} \cdot \text{с}^{-1}.$$

Фоновая мощность дозы равна  $P_0 \approx 4 \cdot 10^{-9} \text{ рад} \cdot \text{с}^{-1}$  [5]. Таким образом, введение  $1 \text{ мкКи} \cdot \text{г}^{-1}$   $\text{H}^3$  вызывает облучение объекта дозой, мощность которой превышает фоновую в  $\frac{P_{\text{H}}}{P_0} = 2,6 \cdot 10^3$  раз, а при введении  $\text{C}^{14}$  —

$\frac{P_{\text{C}}}{P_0} = 2,3 \cdot 10^4$  раз. При изменении вводимой активности в пределах  $0,1$ — $10 \text{ мкКи} \cdot \text{г}^{-1}$  фоновое облучение будет превышено в  $2,6 \cdot 10^2$ — $2,6 \cdot 10^4$  раз для  $\text{H}^3$  и в  $2,3 \cdot 10^3$ — $2,3 \cdot 10^5$  для  $\text{C}^{14}$ . Аналогичные расчеты можно произвести и для других изотопов.

Даже с учетом того, что в расчетах принималось не среднее, а максимальное значение энергии электронов распада, очевидно, что при введении радиоактивной метки в биологические объекты последние облучаются дозами, во много раз превышающими естественный радиоактивный фон. Между тем, было показано, что даже 2—10-кратное превышение фоновой дозы существенно ускоряет период деления клеток [3].

По-видимому, следует проявить осторожность в интерпретации данных радиоавтографических опытов, относящихся к определению различных показателей клеточного деления. Действительно, в литературе уже стали появляться данные об уменьшении генерационного времени клеток и повышении митотического индекса под влиянием радиоактивной метки [6, 7]. Нами также была поставлена серия экспериментов, целью которых являлось выявление воздействия радиоактивной метки на процесс деления инфузорий. В качестве объекта использовались инфузии *Paramecia*.

В питательную среду, где содержались инфузии, добавлялся «холодный» лейцин в количестве  $3,3 \text{ мг}$  на  $1 \text{ л}$  в контроле и  $3,3 \text{ мг}$  на  $1 \text{ л}$  лейцина, меченного  $\text{C}^{14}$ , в опыте. При этом активность  $\text{C}^{14}$  в опыте составляла  $1 \text{ мкКи} \cdot \text{мл}^{-1}$ .

Действие метки определялось по разности среднего периода деления инфузорий в контроле и в опыте, как это описано в [4]. Среднее по шести экспериментам  $\Delta\tau$  оказалось равным:

$$\overline{\Delta\tau} = (0,58 \pm 0,18) \text{ ч},$$



что с достоверностью, большей чем 98%, говорит о том, что введение радиоактивной метки уменьшает период деления инфузорий.

Все вышесказанное указывает на необходимость тщательного изучения влияния радиоактивной метки с низкой активностью на параметры клеточного деления и поиска способов для устранения искажений, могущих возникнуть в радиоавторафических опытах.

## ЛИТЕРАТУРА

1. Епифанова О. И., Терских В. В. Метод автордиографии, «Наука», М., 1969.
2. Гущин В. А. Цитология, 17, 674—681, 1975.
3. Козлов А. А. Радиобиология, II, 935—937, 1971.
4. Козлов А. А. О роли ионизирующего и электромагнитного излучений в регуляции скорости деления клеток. Автореф. канд. дисс., Тбилиси, 1975.
5. Эйзенбад М. Радиоактивность внешней среды, «Мир», М., 1967.
6. Møller U., Larsen J. K., Faber M. Cell and Tissue Kinet., 7, 231—239, 1974.
7. Shakney D. E., Ford S. S., Wittig A. B. Cancer Res., 33, 2726—2731, 1973.

## ავტორადიოგრაფიული გამოკვლევების შედეგების შესაძლებელი დამახინჯების შესახებ

ა. კოზლოვი, გ. თუმანიშვილი

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

### რეზიუმე

შესაბამისი გამოთვლების საფუძველზე გამოთქმულია მოსაზრება, რომ ავტორადიოგრაფიულ გამოკვლევებათა შედეგებზე გავლენას ახდენს არა მარტო უჯრედების რადიაციულ დაზიანებათა გამომწვევეი მაღალი აქტივობის გამოყენება, არამედ რადიოაქტივობის მცირე დოზებიც. მონიშვნის მიზნით ორგანიზმში სულ მცირე რადიოაქტივობის შეტანამაც კი შეიძლება უჯრედების ციკლის ხანგრძლივობის შესამჩნევი შემცირება გამოიწვიოს. ეს ვარაუდი ინფუზორია *Paramecium*-ზე ჩატარებული ცდებითაც დადასტურდა: არეში  $^{14}\text{C}$  — ლეიცილის შეტანა ინფუზორიების გენერაციული დროის არსებით შემცირებას იწვევს.

## THE POSSIBLE DISTORTION OF AUTORADIOGRAPHIC RESULTS

A. A. KOZLOV, G. D. TUMANISHVILI

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

### Summary

It is suggested that apart from the radiation injuries, which occur in the cells when the relatively high activities are used, labelling with low radioactivities may induce the shortening of cell cycle. This suggestion is supported by the results of experiments performed on *Paramecium*, in which the decrease of generation time was obtained under the influence of  $^{14}\text{C}$ -leucine.

УДК 612.744.14

КРАТКИЕ СООБЩЕНИЯ

### ВЛИЯНИЕ ХЕЛАТОНОВ И ИОНОВ МАГНИЯ НА СОКРАЩЕНИЕ ПЛЕНОЧНЫХ НИТЕЙ КОМПЛЕКСА ПРОТЕИН М—АКТОМИОЗИН

Г. В. Микадзе, Н. И. Гогнадзе, М. В. Карселадзе,  
М. М. Заалишвили

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

Поступила в редакцию 12.7.1979

Исследование взаимодействия минорных белков с основными сократительными белками представляет определенный интерес для понимания механизма сокращения. В связи с этим нами было изучено взаимодействие минорного белка протенна М [2] с синтетическим актомиозином.

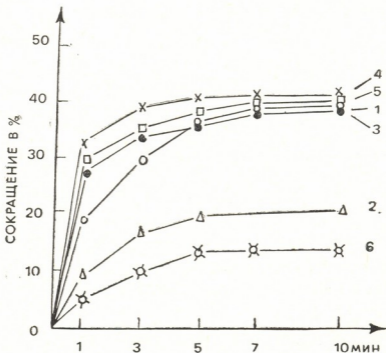


Рис. 1. Влияние ионов  $Mg^{2+}$  на сокращение пленочных нитей актомиозина: 1—0,05 М КСI; 2—0,05 М КСI,  $10^{-2}$  М  $MgCl_2$ ; 3—0,05 М КСI,  $10^{-3}$  М  $MgCl_2$ ; 4—0,05 М КСI,  $10^{-4}$  М  $MgCl_2$ ; 5—0,05 М КСI,  $10^{-5}$  М  $MgCl_2$ ; 6—0,05 М КСI,  $5 \cdot 10^{-3}$  М ЭДТА. Состав среды: 0,02 М веронал-веронал калиевый буфер рН 7,5,  $5 \cdot 10^{-3}$  М АТФ,  $T=37^\circ$

Протеин М увеличивает степень и скорость сокращения миозина В [3] и синтетического актомиозина [3, 6], обусловленного АТФ. Так как, согласно современному представлению, мышечное сокращение регулируется ионами магния, кальция и минорными белками [7, 10], с целью исследования механизма действия протеина М на актомиозин в данной работе проведено сравнительное изучение сократимости плевочных нитей синтетического актомиозина и комплекса синтетический актомиозин — протеин М при разных концентрациях  $MgCl_2$  и в присутствии хелатонов и ионов магния и кальция.

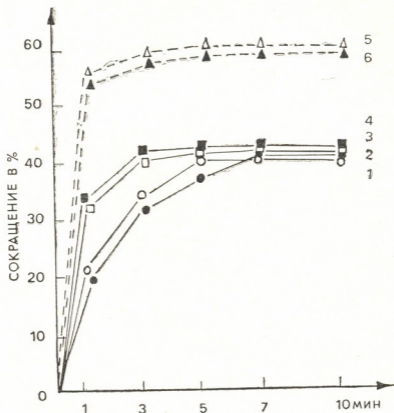


Рис. 2. Влияние ЭГТА на сокращение плевочных нитей актомиозина (—) и комплекса протеин М—актомиозин: (---): 1—0,05 М КСl, 10<sup>-3</sup> М ЭГТА; 2—0,05 М КСl, 10<sup>-3</sup> М ЭГТА; 3—0,05 М КСl, 10<sup>-4</sup> М MgCl<sub>2</sub>; 4—0,05 М КСl, 10<sup>-4</sup> М MgCl<sub>2</sub>, 10<sup>-3</sup> М ЭГТА; 5—0,05 М КСl, 10<sup>-4</sup> М MgCl<sub>2</sub>; 6—0,05 М КСl, 10<sup>-4</sup> М MgCl<sub>2</sub>, 10<sup>-3</sup> М ЭГТА. Условия опыта те же, что на рис. 1

## МЕТОДИКА

Из поперечнополосатой мышцы получали миозин — по Пери [8] и актин — по Риссу и Янгу [9]; из мышцы желудка кролика — протеин М, модифицируя ранее описанный метод [4]. Получение плевочных нитей миозина В и синтетического актомиозина и измерение их сократимости производили по Заалишвили и Микадзе [1].

Синтетический актомиозин получали смешиванием миозина с актином в соотношении 4:1 по весу. Для образования комплекса протеин М—синтетический актомиозин протеин М инкубировали с актомиозином в течение одного часа. Во всех экспериментах брали 10% протеина М от весового содержания миозина в комплексе.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

На рис. 1 представлен временной ход сокращения пленочных нитей актомиозина при разных концентрациях ионов магния. Из рисунка следует, что по сравнению с сокращением при 0,05 М КСl (кривая 1)  $10^{-2}$ М  $MgCl_2$  вызывает снижение скорости и величины сокращения (кривая 2), а  $10^{-3}$ ,  $10^{-4}$  и  $10^{-5}$ М  $MgCl_2$  — увеличение скорости сокращения (кривые 3, 4, 5 соответственно). Максимальная скорость сокращения наблюдается при  $10^{-4}$ М  $MgCl_2$  (кривая 4). В присутствии ЭДТА сокращение нитей резко понижается (кривая 6). ЭДТА в концентрации  $5 \cdot 10^{-3}$ М снижает сократимость с 40 до 15%. Это уменьшение сокращения свидетельствует о влиянии связывания ионов магния, находящихся в белковых препаратах и реактивах. Так как в опытах использовались очищенные препараты миозина и актина, актомиозиновый комплекс не обладал кальцийчувствительностью. ЭГТА, избирательно связывающий ионы кальция, никакого влияния на сократимость не оказывал (рис. 2, кривые 2, 4).

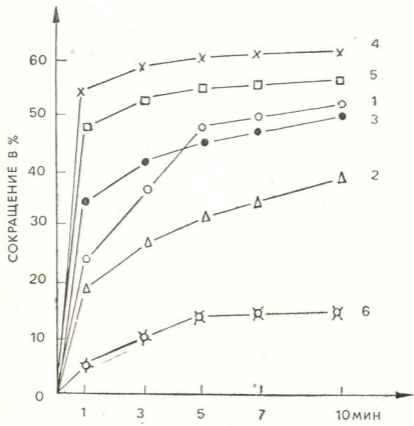


Рис. 3. Влияние ионов  $Mg^{++}$  на сокращение пленочных нитей комплекса протени М—актомиозин. Обозначения и условия опыта те же, что на рис. 1

Изучение сократимости нитей комплекса протени М—актомиозин показало, что протени М при всех концентрациях  $Mg^{2+}$  вызывает ускорение и увеличение степени сокращения актомиозина (рис. 3). Но протени М не меняет характер влияния ионов магния на сокращение актомиозиновых нитей. Так например, из рис. 3 видно, что и в присутствии

протенина М  $10^{-2}$  MgCl<sub>2</sub> уменьшает скорость и величину сокращения (кривая 2),  $10^{-3}$ М,  $10^{-4}$ М и  $10^{-5}$ М увеличивают скорость сокращения актомиозиновых нитей (кривые 3, 4, 5 соответственно), но при  $10^{-4}$ М и  $10^{-5}$ М MgCl<sub>2</sub> возрастает (по сравнению с сокращением при 0,05 М KCl — кривая 1) и величина сокращения. Нити комплекса протенин М—актомиозин проявляют максимальную сократимость при наибольшей скорости сокращения актомиозина (рис. 1, кривая 4). ЭДТА уменьшает сократимость и нитей комплекса протенин М—актомиозин. При  $5.10^{-3}$ М ЭДТА она уменьшается с 50 до 15% (рис. 3, кривая 6). Если сравнить сократимость нитей актомиозина (рис. 1, кривая 6) и нитей комплекса протенин М—актомиозин (рис. 3, кривая 6) в среде, содержащей ЭДТА, видно, что сократимость актомиозина в присутствии и отсутствии протенина М одинакова. Это указывает на то, что протенин М не влияет на сократимость сам по себе, если в среде не присутствует ион магния. Кальций не оказывает никакого влияния на взаимодействие протенина М с актомиозином — в присутствии ЭДТА сократимость нитей комплекса протенин М—актомиозин не меняется (рис. 2, кривая 6).

Так как для сокращения актомиозина необходимо присутствие ионов магния, трудно сказать, в какой мере зависит проявление действия протенина М на сократимость актомиозина от ионов магния. Исходя из факта, что протенин М не меняет характер взаимодействия актомиозина с ионами магния, можно предположить, что последние необходимы лишь для сокращения актомиозина.

В ранних работах исследование взаимодействия протенина М с миозином, актином и актомиозином показало, что протенин М не влияет на вязкость миозина и Ф-актина. Однако протенин М замедляет Г—Ф превращение актина, а актомиозин, образованный в присутствии протенина М, обладает низкой вязкостью. Учитывая влияние протенина М на вязкость и сократимость нитей актомиозина, нами было высказано предположение, что протенин М модифицирует взаимодействие актина с миозином [5].

Вышеприведенные результаты указывают на то, что протенин М не меняет механизм взаимодействия актомиозина с ионами магния и кальция, и наводят на мысль, что модифицирующее действие протенина М на актомиозиновый комплекс не затрагивает ту область системы, которая ответственна за взаимодействие актомиозина с ионами магния и кальция.

## ЛИТЕРАТУРА

1. Заалишвили М. М., Микадзе Г. В. Биохимия, 24, 612—624, 1959.
2. Заалишвили М. М., Микадзе Г. В., Сургуладзе Т. Т. Сообщения АН ГССР, 44, 1, 99—106, 1966.
3. Микадзе Г. В. Сообщения АН ГССР, 59, 2, 453—456, 1970.
4. Микадзе Г. В., Гогнадзе Н. И., Заалишвили М. М. Изв. АН ГССР, сер. биол., 1, 1, 104—106, 1975.
5. Микадзе Г. В., Гогнадзе Н. И., Заалишвили М. М. Изв. АН ГССР, сер. биол., 3, 1, 86—88, 1977.
6. Микадзе Г. В., Гогнадзе Н. И., Заалишвили М. М. Изв. АН ГССР, сер. биол., 5, 1, 75—81, 1979.
7. Ebashi S. Nature, 200, 1010—1010, 1963.
8. Perry V. S. Methods in Enzymology, 11, 583—589, 1955.
9. Ress M. K., Yang M. J. Biol. Chem., 242, 4449—4458, 1967.
10. Watanabe S., Iasui J. Biol. Chem., 240, 105—111, 1965.

მაგნიუმის იონებისა და ხელატონების გავლენა პროტეინ M-სინთეზური აქტომიოზინის კომპლექსის შრიულნი ძაფების შეკუმშვაზე

ბ. მიკაძე, ნ. გოგნაძე, მ. კარსელაძე, მ. ჯაალიშვილი

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

რ ე ზ ი უ მ ე

შესწავლილ იქნა, თუ სინთეზური აქტომიოზინისა და პროტეინ M—სინთეზური აქტომიოზინის კომპლექსის შრიული ძაფების შეკუმშვაობაზე რა გავლენას ახდენს ედტა, ეგტა და სხვადასხვა კონცენტრაციის მაგნიუმის იონები. გამოირკვა, რომ პროტეინ M-ის გავლენით არ იცვლება აქტომიოზინის ურთიერთქმედების ხასიათი მაგნიუმისა და კალციუმის იონებთან. ამ ფაქტის ანალიზის შედეგად გამოთქმულია ვარაუდი, რომ პროტეინ M-ის გავლენით აქტომიოზინის მოდიფიცირება არ უნდა ხდებოდეს აქტომიოზინის იმ არეზე შემოქმედების შედეგად, რომლითაც ხორციელდება აქტომიოზინის ურთიერთქმედება მაგნიუმისა და კალციუმის იონებთან.

THE INFLUENCE OF CHELATONS AND MAGNIUM IONS ON THE CONTRACTION OF COMPLEX PROTEIN M-ACTOMYOSIN FILM FIBERS

G. V. MIKADZE, N. I. GOGNADZE, M. V. KARSELADZE, M. M. ZAALISHVILI

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

S u m m a r y

The comparative study of contractility of synthetic actomyosin film fibers and protein M—synthetic actomyosin complex in the presence of EDTA, EGTA and different concentration of magnium ions has been carried out.

Protein M was shown not to change the character of interaction of actomyosin with magnium and calcium ions. On the basis of the obtained data it may be suggested that the modified influence of protein M on actomyosin system must not affect that range of actomyosin, which is responsible for the interaction of actomyosin with magnium and calcium ions.

УДК 547.96

КРАТКИЕ СООБЩЕНИЯ

## О РЕАКЦИОННОЙ СПОСОБНОСТИ СУЛЬФИДРИЛЬНЫХ ГРУПП $\alpha$ -АКТИНИНА

М. Ш. Симонидзе, Н. Ш. Надирашвили, М. М. Заалишвили

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

Поступила в редакцию 12.7.1979

При изучении структуры и механизма действия физиологически активных белков необходимо исследовать реакционную способность их функциональных групп. Среди различных функциональных групп белка особое место занимают сульфгидрильные. Они часто встречаются в составе активного центра белка и могут быть избирательно модифицированы с помощью разнообразных реагентов.

Целью настоящей работы являлось исследование реакционной способности SH-групп  $\alpha$ -актинина и выяснение возможного значения остатков цистеина для биологической активности минорного белка  $\alpha$ -актинина.

### МЕТОДИКА

$\alpha$ -актинин получали из скелетных мышц кролика по несколько видоизмененному методу Робсона и соавт. [3]. Глобулярный актин получали по методу Рисса и Янга [2]. Гомогенность препарата проверяли методом аналитического гелеэлектрофореза в ПААГ по Веберу [5]. Концентрацию белков определяли интерферометром ИРТ-2. Вязкость белковых растворов измеряли капиллярным вискозиметром Освальда при 20°C. Содержание SH-групп определяли спектрофотометрическим титрованием по методу Бойера, используя 1 мМ раствор *n*-хлормеркурибензоата (ПХМБ) в фосфатном буфере pH 7 [1]. Концентрация ПХМБ определялась измерением поглощения раствора при 232 нм на СФ-4А, при условии, что молярная экстинкция ПХМБ при этой длине волн и pH 7 равна  $1,69 \cdot 10^4$ .

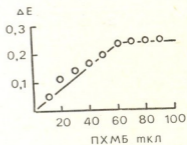


Рис. 1. Спектрофотометрическое титрование  $\alpha$ -актинина кролика ПХМБ

### РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

Аминокислотные составы  $\alpha$ -актининов из разных объектов мало отличаются друг от друга, и по данным Суцуки, Голла и др. [4] в них содержится 17—18 сульфгидрильных групп, из которых 6 доступны и легко идентифицируются в нативном белке (м. в.  $\alpha$ -актинина принимается за 200.000 О). Нами была исследована реакционная способность этих SH-групп, которые титруются ПХМБ в нативном  $\alpha$ -актинине. Кривая титрования  $\alpha$ -актинина ПХМБ приведена на рис. 1. К 2 мл раствора белка (1 мг/мл) в 0,05 М буфере трис-НСl pH 8 добавляли

по 10 мкл 1 мМ раствора ПХМБ. Отсчет брали каждые 5 мин. Наряду с этим в пробе приведено значение  $\Delta E_{250}$  через 25 мин после добавления каждой порции реагента. Опыты показали, что в пробах, содержащих 1 и 2 эквивалента ПХМБ, оптическая плотность раствора увеличивается практически мгновенно, а в пробах, содержащих больше двух эквивалентов, увеличение оптической плотности происходит медленнее и заканчивается через 20—30 мин. Из этого следует, что две SH-группы  $\alpha$ -актинина из шести, идентифицирующихся в нативном белке, легко доступны и, возможно, находятся на поверхности молекулы.

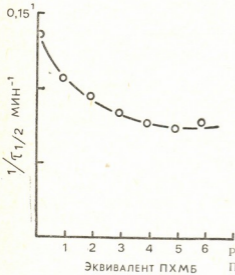


Рис. 2. Скорость образования комплекса  $\alpha$ -актинин—актин в зависимости от количества ПХМБ

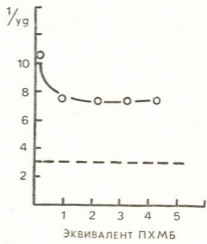


Рис. 3. Диссоциация комплекса под действием ПХМБ. Комплекс получался смешиванием Г-актина и  $\alpha$ -актинина (4 % от веса актина) при ионной силе 0,1. Вязкость комплекса измерялась через 30 мин после добавления ПХМБ (пунктиром показана удельная вязкость Ф-актина)

Для выяснения вопроса, как влияет различная реакционная способность SH-групп на биологическую активность  $\alpha$ -актинина, было исследовано образование комплекса  $\alpha$ -актинин—актин из нативного актина и модифицированного  $\alpha$ -актинина.  $\alpha$ -актинин, инкубированный с разным эквивалентным количеством ПХМБ, добавлялся к Г-актину (2% от веса актина, время инкубации 30 мин), снималась кинетика полимеризации и с помощью кинетических кривых находился полупериод образования комплекса. На рис. 2 показана зависимость значения скорости образования комплекса от эквивалентного количества ПХМБ.

Как видно из рис. 2, блокирование одной SH-группы  $\alpha$ -актинина вызывает торможение скорости полимеризации на 23%, двух SH-групп—на 35%, блокирование же остальных приводит к постепенному уменьшению скорости полимеризации. В результате блокирования двух SH-групп происходит также резкое уменьшение вязкости комплекса.

В результате изучения влияния ПХМБ на комплекс  $\alpha$ -актинин—актин после его образования выяснилось, что при добавлении одного эквивалента ПХМБ происходит частичная диссоциация комплекса, при добавлении двух и более эквивалентов вязкость комплекса остается постоянной [3], т. е. остальные SH-группы после образования комплекса недоступны для реагента.

Таким образом, из этих данных можно заключить, что 6 SH-групп  $\alpha$ -актинина, которые идентифицируются в нативном белке, обладают





различной реакционной способностью по отношению к ПХМБ. Две SH-группы, быстро вступающие в реакцию с ПХМБ, принимают активное участие в образовании комплекса  $\alpha$ -актинин-актин. Возможно, они расположены на поверхности молекулы  $\alpha$ -актинина. Так как после образования комплекса для ПХМБ остается легко доступной только одна сульфгидрильная группа, можно предположить, что две легко доступные SH-группы расположены на разных участках поверхности белка.

ЛИТЕРАТУРА

1. Торчинский Ю. М. В кн.: Сера в белках, «Наука», М., 1977, 118—121.
2. Rees M. K., Young M. J. Biol. Chem., 242, 19, 4449—4458, 1967.
3. Robson R. M., Goll D. E., Arakawa N., Stromer M. M. Biochim. Biophys. Acta, 200, 296—318, 1970.
4. Suzuki A., Goll D. E., Singh J., Allen R. E., Robson R. M., Stromer M. M. J. Biol. Chem., 251, 21, 6860—6870, 1976.
5. Weber K., Osborn M. J. Biol. Chem., 244, 16, 4406—4412, 1969.

$\alpha$ -აქტინინის სულფიდრილური ჯგუფების რეაქციაუნარიანობის შემსახმბ

მ. სიმონიძე, ნ. ნადირაშვილი, მ. ჯაალიშვილი

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

რ ე ზ ი უ მ ე

ნაჩვენებია, რომ  $\alpha$ -აქტინინის SH-ჯგუფები, რომელთა იდენტიფიცირება შესაძლებელია ნატივურ ცილაში, ერთმანეთისაგან განსხვავდებიან პარა-ქლორ-მერკურბენზოატთან (პმმბ) რეაქციის უნარით. ორი SH-ჯგუფი ექვსიდან მყისიერად შედის რეაქციაში პმმბ-თან და აქტიურ მონაწილეობას იღებს  $\alpha$ -აქტინინ — აქტინის კომპლექსის წარმოქმნაში. გამოთქმულია მოსაზრება, რომ  $\alpha$ -აქტინინის ორი SH-ჯგუფი ცილის ზედაპირზე სხვადასხვა უბანშია განლაგებული.

ON THE REACTING ABILITY OF  $\alpha$ -ACTININ SULFHYDRYL GROUPS

M. Sh. SIMONIDZE, N. Sh. NADIRASHVILI, M. M. ZAALISHVILI

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

S u m m a r y

By the method of spectrophotometric titration it is shown that sulfhydryl groups, identified in native  $\alpha$ -actinin, have different reacting abilities with respect to parachlormercuribezoat (PCMB). Two SH-groups of the six, which instantly come into a reaction with PCMB, take an active part in forming the  $\alpha$ -actinin-action complex.

It is supposed that two SH-groups of  $\alpha$ -actinin are arranged in different regions of protein surface.

© Известия АН ГССР  
Серия биологическая, 1979

Технический редактор Н. Г. Чипашвили  
Корректор Э. Е. Кобахидзе

Сдано в набор 14.5.1980; Подписано к печати 23.6.1980; Формат бумаги  
70 × 108<sup>1/16</sup>; Бумага № 1; Печатных л. 8,40; Уч.-издат. л. 7,17;  
УЭ 09216; Тираж 1050; Заказ 1758;  
Цена 70 коп.

---

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

---

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

## К СВЕДЕНИЮ АВТОРОВ

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

12. Авторы получают бесплатно 12 отдельных оттисков.

б. 326/116



ՀԱՅԱՍՏԱՆԻ  
ՆԱԽԱՐԱՐԱԿԱՆ

Цена 70 коп.

76 204