

BIOLOGICAL SERIES

7842  
1981/2



ISSN—0321—1665

საქართველოს კხრ მეცნიერებათა აკადემიის მაცნე

ИЗВЕСТИЯ АКАДЕМИИ НАУК ГРУЗИНСКОЙ ССР

PROCEEDINGS OF THE ACADEMY OF SCIENCES  
OF THE GEORGIAN SSR

ბიოლოგიური  
სერია  
БИОЛОГИЧЕСКАЯ

1981 N 4

თბილისი  
- ТБИЛИСИ -  
Tbilisi VOL.

7

## 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  
Радиobiология  
Биофизика  
Молекулярная биология  
Бионика и биокибернетика

საქართველოს სსრ მეცნიერებათა აკადემიის მაცნე  
ИЗВЕСТИЯ АКАДЕМИИ НАУК ГРУЗИНСКОЙ ССР

ბიოლოგიური  
СЕРИЯ БИОЛОГИЧЕСКАЯ

ტომი 7, № 4

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

გამოცემობა „მეცნიერება“  
ИЗДАТЕЛЬСТВО «МЕЦНИЕРЕБА»

თბილისი  
ТБИЛИСИ ● 1981

სარედაქციო კოლეგია:

მთავარი რედაქტორი ვ. ჟუჭავა  
მთავარი რედაქტორის მოაღილე თ. თნიანი  
სრულული მდივანი გ. ბექაია

ლ. გაბუნია, ს. ლურმიშიძე, მ. ზაალიშვილი, გ. თუმანიშვილი, ი. თუმაშანოვა,  
გ. კანდელაკი, ნ. კეცხოველი, კ. ნადარეიშვილი, ვ. ქომეთიანი, ბ. ყურაშვილი,  
ნ. ძაძიშვილი, თ. ჭანიშვილი, შ. ჭანიშვილი, ნ. ჯავახიშვილი  
პასუხისმგებელი მდივანი ს. ლაბაძე

#### РЕДАКЦИОННАЯ КОЛЛЕГИЯ:

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

Л. К. Габуния, Н. А. Джавахишвили, Н. Н. Дзидзишвили, С. В. Дурмишидзе,  
М. М. Заалишвили, Г. В. Канделаки, Н. Н. Кецховели, П. А. Кометиани,  
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. Bekaya

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

© Известия АН ГССР  
Серия биологическая, 1981

ИЗВЕСТИЯ АКАДЕМИИ НАУК ГССР  
Серия биологическая, т. 7, № 4, 1981

СОДЕРЖАНИЕ—ЧАСТЬ 4—CONTENTS

Б. Е. Курашвили. Итоги и перспективы работы Института зоологии АН ГССР	293
ბ. უ. რამზალი. საქართველოს მეცნიერებათა აკადემიის ზოოლოგიის ინსტიტუტის მუშაობის შედეგები და პერსპექტივები	
В. Е. Kurashvili. Results and perspectives of activity of the Institute of Zoology of the Georgian Academy of Sciences	
М. М. Мгалоблишвили, Р. Корчински. Влияние повреждения медиальной и латеральной частей миндалины на двигательную активность крыс	302
მ. მ. მგალიბლიშვილი, რ. კორცინსკი. ურთისებრი კომპლექსის მერიალური და ლატერალური უბნების დაზიანების გავლენა ვირთაგვების მოძრაობით აქტივობაზე	
М. Mgaloblishvili, R. Korchynski. Effect of lesions in the medial and lateral amygdala on the rat's motor activity	
З. М. Топурия. Ультраструктурные особенности аэроматического барьера в процессе старения и в условиях патологии	310
ზ. თ. თურია. აეროჰემატური ბარიერის ულტრასტრუქტურული თავისებურებანი დაბერების პროცესში და პათოლოგიის პარობებში	
Z. M. Topuria. Ultrastructural characteristics of aero-hematic barriers in aging and in pathology	
В. С. Абашидзе. К морфологии спинномозговых нервов рыб	321
ვ. ს. აბაშიძე. თევზის ზურგის ტვინის ნერვების მორფოლოგიისათვის	
V. S. Abashidze. On the morphology of spinal nerves of fish	
Э. Я. Кобасnidзе, Л. А. Кобахидзе. К исследованию эндосперма и эндоспермальных гаусторий у буквииц	327
ე. յ. კობასნიძე, ლ. ა. კობახიძე. წარისპირას წარმომადგენლებში ენდოსპერმისა და ენდოსპერმმული პაუსტიორულურების შესწავლისათვის	
E. J. Kobasnidze, L. A. Kobakhidze. Study of the endosperm and endospermal haustoria in <i>Betonica L.</i>	
Ф. Г. Долидзе, Л. М. Глонти, М. А. Мосидзе. Сохранность мембранный структуры и адгезивной функции тромбоцитов в растворе NaCl в зависимости от величины pH и ионной силы	333
ფ. გ. დოლიძე, ლ. მ. გლონთი, მ. ა. მოსიძე. NaCl-ის ხსნარში თრომბოციტების მემბრანული სტრუქტურისა და ღლებზის უნარის შენარჩუნების დამკიდებულება pH-ზე და ონბური ძალის ხდილებები	
T. G. Dolidze, L. M. Glonti, M. A. Mosidze. Platelets membrane structure and adhesion function preservation in sodium chloride solution as dependent on pH and ionic strength	
Н. А. Костенко. Изменчивость нейроглиальных отношений в изолированной полоске коры головного мозга кошки при ее прямом электрическом раздражении	340
ნ. ა. კოსთენი. კატის თავის ტვინის ქერქის ბოლორებულ ზოლში ნეიროგლიურ ურთიერთობათა ცვალებადობა ქერქის ელექტრული გაღიზანების დროს	
N. A. Kostenko. Variability of neuroglial relations during direct electrical stimulation of an isolated slab of the cat's cerebral cortex	
И. А. Брегвадзе, И. К. Сванидзе. Идентификация клеток в диссоциированных культурах мозжечка	347
ი. ა. ბრეგვაძე, ი. კ. სვანიძე. ნეიროგლიურ ურთიერთობის და გარებულების დაზიანების დროს	
I. A. Bregvadze, I. K. Svanidze. Identification of cells in dissociated cultures of cerebellum	
Ш. Р. Джинджолия, П. В. Челидзе. Классификация ядрышек в гепатоцитах куриных зародышей	351
შ. რ. ჯინჯილია, პ. ვ. ჭელიძე. კლასიფიკაცია ქარისხების გეპათოციტების კურის კურის გარებულების დროს	

ა. ვანიას 136. 638. 666  
სახელმწიფო სამსახური  
10 0 2 0 0 9 9 9

ქ. ჭიბულია, პ. ჭელიძე. ქათმის ჩანასახის ჰეპატოციტების ბირთვაკთა კლასიფიკაცია

Sh. R. Jinjolia, P. V. Chelidze. The classification of chick embryo hepatocytes nucleoli

თ. ა. ჯალაშვილი. Влияние олигопептидов на активность аденилаткиназы и фосфодиэстеразы во фракциях, обогащенных клетками глии и синаптосом

ო. გალიაშვილი. ოლიგოპეპტიდების გავლენა ადენილ-ტრიფილაზისა და ფილოლინესტერაზის აქტივობაზე გლიური უზრუდებითა და სინაპტოსომებით გამდიდრებულ ტრაქციებში

T. A. Jaliaishvili. Effects of oligopeptides on adenyl cyclase and phosphodiesterase activities in synaptosomal and glial cell enriched fractions

ვ. ვ. კორიძე, რ. დ. პოლანდოვა, ლ. ი. გუსევა, ნ. ნ. მასლიკოვა, ლ. ლ. კვაჩაძე, გ. ი. კვესიაძე. ფერმენტური კისლოსტაბილური ა- და გლუკომილაზების ფერმენტული პრეპარატი და მისი გამოყენების პერსპექტივები

V. V. Koridze, R. D. Polandova, L. I. Guseva, N. N. Maslikova, L. L. Kvachadze, G. I. Kvesitadze. Acid stable  $\alpha$ - and glucoamylase enzymes preparation and perspectives of its application

ლ. ი. ცინცაძე, ვ. ე. კურაშვილი, ლ. კ. ვერხვაძე, ნ. გ. პხალაძე, დ. ი. მირზაშვილი, ზ. ვ. ორჯონიქიძე, მ. შ. კობახიძე. Использование индикаторных бумажных систем в бактериологической диагностике вибрионов и энтеробактерий

ლ. ცინცაძე, ვ. ურაშვილი, ლ. ვერხვაძე, ნ. ფხალაძე, დ. მირზაშვილი, ზ. ორჯონიქიძე, მ. კობახიძე. ქალალის ინდიკატორული სისტემების გამოყენება ვიბრიონებისა და ენტერობაქტერიების ბაქტერიოლოგიურ დაგნოსტიკური

L. I. Tsintsadze, V. E. Kurashvili, L. K. Verkhvadze, N. G. Pkhala-  
dze, D. I. Mirzashvili, Z. V. Orlonikidze, M. Sh. Kobakhidze. Use of paper indicator systems in the bacteriological diagnosis  
of vibrio and enterobacteria

#### Краткие сообщения

#### ბოლე ცნობები

#### Short communications

ა. ი. გოგელია. К вопросу изучения некоторых механизмов действия метамизила и октоклотовина

ა. გოგელია. მეტამიზილისა და ოქტოკლოტების მოქმედების ზოგიერთი მექანიზმის შესწავლა

A. I. Gogelia. The study of some mechanisms of the action of metamizile and oectoclotepine

ე. ლ. დემურია. Влияние ядерного экстракта, обработанного теплом и РНКазой, на окислительное фосфорилирование митохондрий печени крысы *in vitro*

ე. ღმურია. სითბოთი და რნბ-აზით დამუშავებული ბირთვული ექსტრაქტის გავლენა ვირთაგვას ღვიძლის მიტოქონდრიის უანგვით ფოსფორილირებაზე *in vitro*

E. L. Demuria. Influence of treated by heat and RNAase nuclear extract on oxidative phosphorylation in rat liver mitochondria *in vitro*

თ. მ. ზაალიშვილი. Влияние эндонуклеазы на поли (АДФ-рибоза) полимеразную активность ядер мозга крыс

თ. ზალიშვილი. ენდონუკლეაზის გავლენა ვირთაგვას ტვინის ბირთვების პოლი(ადფ-რიბოზა) პოლიმერაზულ აქტივობაზე

T. M. Zaalishvili. The influence of endonuclease on poly (ADP-ribose) polymerase activity of rat brain nuclei

357

363

369

374

377

381



К 60-летию Советской власти в Грузии  
К 40-летию основания Академии наук ГССР

## ИТОГИ И ПЕРСПЕКТИВЫ РАБОТЫ ИНСТИТУТА ЗООЛОГИИ АН ГССР

Б. Е. Курашвили

Институт зоологии АН ГССР, Тбилиси

Поставленная после установления Советской власти в Грузии задача резкого подъема народного хозяйства и благосостояния трудящихся выдвинула, наряду с рядом других проблем, проблему рационального использования и охраны природных ресурсов, в частности ресурсов животного мира.

В первые же годы Советской власти в Грузии в системе разных ведомств возник ряд учреждений, ведущих исследования в тех областях зоологии, которые соответствовали практическим задачам того или иного ведомства. Эти учреждения в результате многолетних исследований содействовали осуществлению важнейших мероприятий по защите с/х растений и леса от вредителей, по борьбе с инвазионными и инфекционными заболеваниями человека и с/х животных и др.

Однако, ограничивая круг своих исследований лишь определенными объектами и вопросами, эти учреждения прикладного профиля не могли заниматься фундаментальными зоологическими исследованиями, в то время как данные таких исследований — основа успешной разработки вопросов прикладной зоологии. В связи с этим в 1932 году было создано научно-исследовательское зоологическое учреждение в виде Зоологического сектора Закавказского, а затем (с 1935 года) Грузинского филиала АН СССР. В 1941 году Зоологический сектор был преобразован в Институт зоологии АН Грузинской ССР. За годы своего существования институт из небольшого сектора с небольшим числом сотрудников вырос в довольно крупное учреждение, где в настоящее время работает свыше 240 сотрудников (в том числе 109 научных сотрудников, из них 2 чл.-корр. АН ГССР, 3 доктора наук и 58 кандидатов наук).

Научно-исследовательская работа института в основном связана с общесоюзным научным направлением «Закономерности развития органического мира и научные основы использования и воспроизведения ресурсов биосферы». После создания при институте в 1976 г. лаборатории биологических основ повышения продуктивности животноводства была начата работа по направлению «Проблемы сельскохозяйственных наук».

Исследования института по первому из названных направлений объединены вокруг следующих трех проблем:

1. Биологические основы освоения, реконструкции и охраны животного мира.

2. Закономерности индивидуального развития животных и управление процессами онтогенеза.

### 3. Проблемы гидробиологии, ихтиологии и использования биологических ресурсов водоемов.

Научное направление «Проблемы сельского хозяйства» представлено «Проблемой интенсификации животноводства».

Исследования, проведенные институтом в связи с проблемой «Биологические основы освоения, реконструкции и охраны животного мира», велись в следующих направлениях.

**Фаунистические исследования.** Основная цель этих исследований — изучение на территории Грузии видового состава отдельных групп животных и их эколого-географического распределения. Значительное количество исследований в этом направлении коснулось энтомофауны — наиболее многообразной и многочисленной группы животных, имеющей большое значение в народном хозяйстве и быту. О видовом составе и эколого-географическом распределении на территории Грузии многих групп насекомых получены почти исчерпывающие данные. Изучались некоторые группы клещей, иксодовые, тетраниховые, акаридные, панцирные, а также некоторые другие беспозвоночные.

Из позвоночных животных в наибольшей степени изучена фауна грызунов. Получены исчерпывающие данные о их видовом составе, эколого-географическом распределении их отдельных видов на территории Грузии, особенностях экологии и хозяйственном значении. Проведено эколого-фаунистическое изучение птиц и пресмыкающихся Грузии.

Большая работа проведена по изучению охотничьих животных: выяснено распределение на территории Грузии и состояние популяций белки, зайца, куницы, оленя, косули, серны, тура, дикой свиньи, медведя.

Отдельную серию фаунистических исследований института составляют исследования структуры комплексов животных в отдельных ландшафтных зонах и биоценозах. Они имеют целью дать более точную оценку животных, населяющих определенную территорию, с точки зрения хозяйственного, эпидемиологического и эпизоотологического значений, а также в свете задач повышения продуктивности сельского, лесного, охотничьего хозяйства и охраны природы. В течение последних двух пятилеток в этом направлении изучено животное население Сагурамо-Гомборского среднегорья и Колхидской низменности. После создания лаборатории почвенной зоологии планомерно и систематически изучалась структура животного населения коричневых почв, горных черноземов и горно-луговых почв.

**Аутэкологические исследования** коснулись в основном тех видов животных, которые причиняют вред народному хозяйству и здоровью человека или, наоборот, приносят пользу. Объекты этих исследований разнообразны — ряд видов насекомых и клещей, пресмыкающиеся, грызуны, охотничьепромысловые птицы, млекопитающие и др.

Исследования института имеют не только теоретическое (с точки зрения систематики животных, зоогеографии и экологии), но и практическое значение — как научная основа для разработки практических мероприятий по борьбе с приносящими вред животными и по охране и увеличению численности полезных животных;

**Изучение паразитических животных.** В результате многолетних исследований в этом направлении изучена гельмитофауна охотничьепромысловых и других птиц, домашних куриных и водоплавающих птиц, мелких млекопитающих, рыб, насекомых и др. Кроме изучения гельмитофауны животных, проводились эколого-фаунистические исследования паразитических нематод сельскохозяйственных растений.

Часть гельминтологических исследований была посвящена изучению распространения на территории Грузии гельминтов человека и сельскохозяйственных животных. Были выявлены очаги гельминтов, а также некоторые неизвестные дефинитивные и промежуточные хозяева возбудителей разных гельминтов.

Начаты комплексные эколого-паразитологические исследования животных отдельных районов Грузии. В результате этой работы выявлен качественный и количественный состав паразитокомплексов различных животных-хозяев (насекомых, рыб, амфибий, пресмыкающихся, птиц, млекопитающих); выяснена зависимость структуры паразитокомплексов от факторов внешней среды, выявлены очаги основных гельминтов на обследованной территории.

Параллельно с вышеперечисленными исследованиями экспериментально разрабатывались такие вопросы, как взаимоотношение паразита и хозяина, специфичность паразитов, роль филогенеза и среды в формировании гельминтофауны, изменение содержания микроэлементов в тканях животных при гельминтозе и др. При проведении этих экспериментальных исследований использовались методы биохимии, электронной микроскопии, спектрального анализа.

Помимо гельминтологических исследований, в последние годы в институте началось изучение протозойных паразитов некоторых животных. Изучена фауна протозойных паразитов рыб в бассейне р. Куры; выявлен ее видовой состав, особенности сезонной динамики и их зависимость от таких факторов, как особенности сезонной динамики, биология рыбы-хозяина, гидрологические и др. экологические условия в разных отрезках р. Куры и других водоемах ее бассейна.

В течение ряда последних лет ведутся эколого-фаунистические исследования паразитов крови птиц и кокцидий мышевидных грызунов и птиц. К настоящему времени уже получены достаточно богатые данные о видовом составе этих паразитов, распространении, экстенсивности инвазии, факторах формирования паразитокомплексов.

Основным объектом комплексных исследований проблемы «Гидробиология, ихтиология и использование биологических ресурсов водоемов» с самого начала были главные озера и водохранилища Грузии.

В результате этих исследований были изучены в сезонном аспекте гидрологический и гидрохимический режим водоемов, качественный и количественный состав микрофлоры, фито- и зоопланктона, зообентоса, их стационарное распределение и биомасса, структура рыбного населения и биология отдельных видов рыб. Результаты этих исследований имеют значение в связи с вопросами разработки типологии внутренних водоемов Грузии, а также практических мероприятий по рыбоводству и использованию этих водоемов.

Многолетние работы были посвящены эколого-фаунистическому изучению рыб в реках. В этом отношении изучены все значительные реки Грузии, выявлены видовой и подвидовой состав ихтиофауны, закономерности эколого-географического распределения рыб и история формирования ихтиофауны.

Кроме ихтиофаунистических исследований, были проведены работы по внутривидовой систематике и биологии рыб, в частности в отношении акклиматизированных в Грузии сиговых рыб, дана оценка результатов акклиматизации этих рыб и их рыбоводственного значения в условиях озер Джавахетского нагорья.

Последующим этапом гидробиологических исследований явились работы по изучению биологической продуктивности водоемов (на основе ее динамического понимания). В течение последних лет выпол-

нен ряд исследований отдельных звеньев круговорота веществ в конкретных водоемах (Кумисское, Марабдинское водохранилища). Изучались главные особенности биологии массовых форм зоопланктона и зообентоса, характеризующие и, в известной мере, количественно оценивающие эти формы как отдельные звенья круговорота веществ в водоеме. Вместе с тем получены данные по таким вопросам, как величина первичной продукции, качественный и количественный состав дрожжевых грибков и их распределение в водоеме, питательная ценность и усвоемость различными водными беспозвоночными, структура и численность рыбного населения и биология отдельных видов рыб, в частности их питание.

Кроме стоячих водоемов, объектом гидробиологического и ихтиологического изучения явилась и река Кура (в пределах Грузии), в результате чего дана характеристика гидрологического и гидрохимического режимов этой реки, выяснена сезонная динамика качественного и количественного состава бактерио-фито- и зоопланктона вдоль течения реки; определена первичная продукция реки и ее потенциальная рыбопродуктивность; изучена количественная и возрастная структура рыбного населения и влияние на нее зарегулирования речного стока.

С задачами повышения продуктивности внутренних водоемов связаны не только гидробиологические исследования, но и работа отдела средств биологической системотехники и бионики, направленная на создание точных и доступных инструментальных средств для контроля компонентов водной среды.

В результате этой работы разработаны новые электрохимические датчики, характеризующиеся специфической избирательностью к ортофосфат- и сульфат ионам, что дает возможность создать измерительное устройство для прямого электрометрического определения этих ионов. В отделе бионики, совместно со Специальным бюро аналитического приборостроения, разработаны и приняты к внедрению два прибора: оксиметрический зонд КМ-105 и комбинированный ионометрический зонд И-103. Первый из этих приборов предназначен для быстрого определения растворенного в воде кислорода и температуры воды в выбранных точках водоемов, второй позволяет определять ионный и газовый составы воды в полевых условиях.

Комбинированный ионометрический зонд И-103 и оксиметрический зонд КМ-105 экспонировались на всесоюзных (Москва, Тбилиси) и зарубежных (Лейпциг, Ханой, Тегеран, Лондон, Измир) выставках. Первый — награжден одной серебряной и двумя бронзовыми медалями, а второй — Золотой медалью Международной весенней ярмарки в Лейпциге.

Исследования по проблеме «Закономерности индивидуального развития животных и управление процессами онтогенеза» были связаны, в основном, с вопросами изучения отдельных органогенезов, их формообразовательных аппаратов.

За последние годы изучение органогенезов было углублено благодаря применению гистохимии, цитофотометрии, электронной микроскопии, авторадиографии и других современных методов исследования. Так, при изучении органогенеза глаза птиц выявлена взаимосвязь ультраструктуры и химической дифференцировки, описаны явление соматической полиплоидии в эмбриогенезе и изменения ультраструктуры клеток в процессе дифференцировки глаз и при изменении физиологической активности его клеток под влиянием стимулирующих и ингибирующих факторов.

Часть исследований была посвящена изучению реактивности тканей животных в постнатальном онтогенезе при воздействии внешних факторов. Так, например, одна из серий работ в этом направлении посвящена изучению микроморфологических и биохимических изменений в тканях и органах птиц под влиянием противочумной и противовоспенной вакцин. Исследование показало, что возникающие при этом изменения носят обратимый характер, и применение вакцин не оказывает отрицательного действия на развитие и рост птиц.

Как было отмечено выше, по проблеме интенсификации животноводства работа ведется в двух направлениях:

а) создание многоплодной скороспелой породы овец с ускоренным оборотом стада; б) создание высокопродуктивных стад крупного рогатого скота.

По первому направлению проводилось оплодотворение местных пород овец спермой северокавказских мясоперстных производителей по схеме поглотительного скрещивания. Высококровные помеси скрещиваются с многоплодной, скороспелой и полигестрической имеретинской породой и многоплодными породами: романовской и финской ландрас. Как показали более ранние исследования, плодовитость овец-маток, полученных от отмеченного скрещивания, увеличивается с 80—90 ягнят до 170—180 голов со 100 маток (наличие на начало года). Помеси первого поколения имеют высокую живую массу и настриг шерсти. Опыты продолжаются.

По второму вопросу проводятся работы по консолидации двух и трехпородных гибридов зебу и крупного рогатого скота.

Вопросы охраны природы, а именно животного мира, отражены в тематике института, одной из проблем которой является общесоюзная проблема «Биологические основы реконструкции и охраны животного мира». Главное содержание исследований, как уже отмечалось выше, выражается в изучении видового состава животного мира Грузии, эколого-географического распределения отдельных видов или групп животных на территории Грузии, современного состояния их популяций и особенностей их экологии. Изучение этих вопросов является необходимой предпосылкой для разработки научно обоснованных мероприятий по охране и преобразованию животного мира.

По результатам отмеченных выше исследований основных охотничье-промысловых зверей и птиц составлялись заключения и предложения, касавшиеся мер охраны и увеличения численности этих животных, возможности допущения охоты на некоторых животных, сроков охоты на них.

Одним из важных условий осуществления мер по охране охотничье-промышленных животных является знание их численности. В связи с этим институт разработал методы количественного учета охотничье-промышленных птиц и зверей, опубликованные в виде отдельной книги как руководство для работников заповедников и охотничьих хозяйств.

Значительное место в исследованиях института занимает вопрос об охране и увеличении рыбных ресурсов во внутренних водоемах Грузии. На основании данных гидробиологических и ихтиологических исследований институтом разрабатывались мероприятия по охране, рациональному использованию и увеличению рыбных запасов в конкретных водоемах. В связи с зарегулированием некоторых рек институт вносил предложения о сохранении запасов промысловых рыб, потерявших доступ к местам нереста из-за возводимых на реке плотин.

С точки зрения охраны диких животных (рыбы, птицы, звери) немалое значение имеют исследования по изучению гельминтофауны. Результаты этих исследований позволили предложить меры борьбы с гельминтозами этих животных.

Изучение герпетофауны показало, что численность ядовитых змей, в том числе гюрзы, сильно сократилась, вследствие неумеренно проводившегося отлова их для получения змеиного яда. На основе разработанных институтом предложений Советом Министров Грузинской ССР издано распоряжение о мерах охраны ядовитых змей.

Многочисленные исследования по экологии разных групп насекомых также связаны с вопросами охраны животного мира, поскольку их основная цель — выявление полезных энтомофагов и опылителей растений. В частности, следует отметить изучение фауны некоторых перепончатокрылых и экологии некоторых их представителей (например паразитов тлей) с целью выявления возможности их использования для борьбы с вредными насекомыми и разработки мер по их охране.

Институт зоологии принял активное участие в составлении Красной книги Грузинской ССР.

Вся научно-исследовательская работа института координируется в общесоюзном масштабе через научные советы АН СССР по соответствующим проблемам. Институт представляет в научные проблемные советы планы своих научно-исследовательских работ и краткие отчеты об их выполнении, а также участвует в обсуждении этих документов на пленумах проблемных советов. Один из таких пленумов по проблеме «Биологические основы освоения реконструкции и охраны животного мира» состоялся при Институте зоологии АН ГССР в апреле 1979 г.

В течение истекшей пятилетки институт принял участие в проведении некоторых работ совместно с другими научными учреждениями. Так, совместно с Гельминтологической лабораторией АН СССР им. К. И. Скрябина и Центральной гельминтологической лабораторией Болгарской АН отдел паразитологии института выполнил тему «Эколо-фаунистическое изучение гельминтов домашних и диких птиц районов побережья Черного и Каспийского морей».

Лаборатория цитологии разработала совместно с Институтом биологии развития АН СССР тему по изучению цитологической дифференцировки пигментного слоя глаза амфибий и его потенций.

Отдел паразитологии Института зоологии АН ГССР и Институт зоологии АН Азербайджанской ССР исследовали паразитофауну рыб бассейна р. Куры, результаты уже опубликованы в виде отдельной книги.

Институт принял участие в составлении «Определителя гельминтов мелких млекопитающих СССР», подготовленного и изданного Гельминтологической лабораторией АН СССР.

В 1977 г., по инициативе Института зоологии АН ГССР в Тбилиси была проведена Первая Закавказская конференция по вопросам общей паразитологии, на которой были рассмотрены итоги исследований и обсуждены задачи научных исследований в области общей паразитологии.

Институт поддерживает систематическую связь с рядом научных учреждений АН СССР (Зоологический институт — в основном по вопросам систематики, зоогеографии, фаунистики; Гельминтологическая лаборатория им. К. И. Скрябина — по вопросам общей гельминтологии; Институт эволюционной морфологии и экологии животных им. Северцева — по вопросам почвенной зоологии, экологии и др.; Институт

тут биологии внутренних вод и кафедра гидробиологии Ленинградского государственного университета — по вопросам гидробиологии; Институт биологии развития — по вопросам экспериментальной эмбриологии и цитологии и др.) и зарубежных стран.

Руководствуясь решениями ЦК КПСС и постановлениями правительства в области осуществления важных государственных научных и научно-технических проблем, а также расширения связей науки с производством и решением XVIII пленума ЦК Компартии Грузии, Институт зоологии АН Грузинской ССР заключил договор о творческом социалистическом содружестве с Институтом органического синтеза АН Латвийской ССР и о совместном проведении научно-исследовательских работ по теме «Изыскание новых биостимуляторов».

Институт органического синтеза синтезировал и разработал новые биостимуляторы, а Институт зоологии изучил специфическую активность субстратов в полу производственных опытах на птицах и на рыбах.

Полученные в результате этих наблюдений данные указывают на то, что использование в кормлении цыплят-бройлеров препарата кватерина в количестве 400 г на 1 т корма благоприятно влияет на их жизнеспособность, рост и развитие.

Связь института с высшими учебными заведениями республики заключается, главным образом, в систематической помощи, оказываемой биологическому факультету Тбилисского государственного университета и факультету естествознания Тбилисского педагогического института им. А. С. Пушкина в проведении летней полевой практики студентов IV—V курсов и лабораторной практики по цитологии, а также в руководстве курсовыми и дипломными работами студентов.

Международные научные связи в течение последних 10—12 лет выразились, главным образом, в участии во всесоюзных, международных и зарубежных национальных научных форумах (28 форумов), посвященных проблемам энтомологии, териологии, паразитологии, гельминтологии, морфологии животных, гидробиологии.

**Внедрение результатов научной работы в практику.** Одной из основных форм внедрения результатов научных исследований в практику является публикация научных работ. Работы сотрудников института систематически печатались в специальных журналах; до 1964 г. издано 19 томов «Трудов Института зоологии», а с 1964 г. издано по 4—5 выпусков следующих серийных изданий: «Материалы к фауне Грузии», «Паразитологический сборник», «Гидробиология и ихтиология внутренних водоемов Грузии», «Онтогенез животных». Помимо этого, был издан ряд сборников, посвященных фауне некоторых природных районов Грузии, а также 52 монографии, в которых обобщены результаты изучения отдельных групп животных и разработка вопросов экологии, паразитологии и морфологии животных.

С целью популяризации зоологических знаний издано 30 научно-популярных брошюр, посвященных отдельным вопросам зоологии и использованию зоологических знаний для разрешения практических вопросов. В частности, издан цветной атлас рыб пресных вод Грузии и находится в печати атлас млекопитающих Грузии.

Кроме того, массовым тиражом издано несколько настенных таблиц, посвященных главным гельминтозам и борьбе с ними.

Одной из форм внедрения в практику результатов научно-исследовательских работ Института зоологии является проведение консультаций и передача рекомендаций оперативным и хозяйственным учреждениям по возникающим в их деятельности вопросам.

Так например, Ветеринарному управлению Министерства сельско-



го хозяйства ГССР были переданы результаты изучения в Грузии по лазиоза рогатого скота и рекомендации практических мероприятий по борьбе с этим гельминтозом.

Правлению Общества охотников и рыболовов Грузии — методы количественного учета охотничьих птиц и зверей (это руководство распространено в районных организациях Союза охотников для использования в практике охотничих хозяйств).

«Грузрыбпрому» и Грузинскому отделению Азчеррыбвода — данные о состоянии запасов рыбы в рр. Кура, Алазани и Храми и рекомендации о прекращении промыслового лова рыбы на определенных отрезках рек.

Проектному институту водохозяйственного строительства — предложения об оставлении нетронутыми определенных участков территории Колхидской низменности в связи с задачей охраны и увеличения численности охотничьих и других животных.

В результате изучения охотничьих млекопитающих в Боржомском районе в СМ ГССР было послано предложение о необходимости проведения в Боржомском госзаповеднике борьбы с волками, размножение которых создавало угрозу существующей там популяции оленя.

Высокая эффективность гибридизации крупного рогатого скота с зебу позволила рекомендовать это мероприятие для широкого внедрения в колхозное и совхозное производство низменных и предгорных районов республики. С этой целью в 1979 и в 1980 гг. лаборатория завезла 12 000 доз глубокозамороженной спермы зебу и зебу-гольштинофризских гибридов. В колхозах Сигнахского района получены гибриды зебу × местный скот, а также зебу-гольштинофриз × местный скот. В 1980 г. лаборатория завезет еще 10 000 доз спермы зебу.

**Главные направления фундаментальных исследований Института зоологии АН Грузинской ССР в XI и XII пятилетках.** Согласно плану научно-исследовательских работ в будущем институт будет вести работы по следующим общесоюзным проблемам: «Биологические основы освоения, реконструкции и охраны животного мира», «Закономерности индивидуального развития животных и управления процессами онтогенеза», «Проблемы гидробиологии, ихтиологии и использования биологических ресурсов водоемов» и «Проблемы интенсификации животноводства».

Большая часть предстоящих исследований связана с первой проблемой. Некоторые из них посвящены эколого-фаунистическому изучению ряда групп животных. Некоторые темы связаны с задачей разработки основ биологического метода борьбы с вредителями сельского хозяйства и направлены на изучение фауны и экологии энтомофагов.

В связи с этой же проблемой намечаются исследования по изучению структуры животного населения высокогорной зоны Кавказа (комплексы как наземных, так и почвообитающих беспозвоночных животных).

Паразитологические исследования будут направлены, в основном, на изучение паразитологической ситуации в сообществах животных горных ландшафтов Триалетского хребта — в связи с вопросами циркуляции паразитов в природе и борьбы с паразитами человека и сельскохозяйственных животных.

Темы, связанные со второй проблемой, в основном, предусматривают изучение морфологической (на тканевом, клеточном и субклеточном уровнях) и химической дифференцировки зародышей органов, а также изучение влияния разных внешних факторов на эти процессы.

Гидробиологические исследования (третья проблема) представлены, в основном, изучением биологической продуктивности озера Па-

равани, а также ихтиологическим изучением малых рек. Продолжаются исследования для разработки экспресс-метода и макета измерительного устройства по определению биохимического потребления кислорода в природных водоемах рыбохозяйственного назначения.

По «Проблеме интенсификации животноводства» институт продолжает разработку рациональных мероприятий производства говядины на засоленных землях Алазанской долины, а также систем мероприятий по совершенствованию имеретинской овцы и созданию высокопродуктивного стада молочного скота на базе скрещивания местных пород с зебу — гольштинофризскими гибридами.

На ближайшие годы перед институтом зоологии стоит задача повышения эффективности научных исследований. Это диктуется, в первую очередь, тем, что в связи с быстрым научно-техническим прогрессом хозяйственная деятельность общества из года в год оказывает все более сильное воздействие на животный мир, а вследствие этого все более необходимой становится разработка научно обоснованных мероприятий, которые должны реально обеспечить охрану и рациональное использование животного мира, его реконструкцию в соответствии с ситуацией, возникающей в природе в условиях интенсивного развития промышленности и сельского хозяйства.

Эти задачи отражены в Конституциях СССР и Грузинской ССР, а также в законе об охране и использовании животного мира. Для их успешного разрешения необходимо, наряду с исследованиями описательного характера, расширять и углублять исследования протекающих в животном мире процессов, взаимосвязей как между животными, так и между ними и средой. Это требует усиления исследований по популяционной экологии и исследований синэкологического характера, результаты которых должны создавать более надежную основу для прогнозирования возможных изменений в природе и для выработки более эффективных мероприятий по охране природы и ее реконструкции путем создания высокопродуктивных и стабильных биоценозов и агроценозов в условиях расширяющегося развития промышленного производства.

**ბ. ყურაშვილი.** საქართველოს სსრ მეცნიერებათა აკადემიის ზოოლოგიის ინსტიტუტის მუშაობის შედეგები და პერსპექტივები.

**B. E. Kurashvili.** Results and perspectives of activity of the Institute of Zoology of the Georgian Academy of Sciences.

ИЗВЕСТИЯ АКАДЕМИИ НАУК ГССР  
Серия биологическая, т. 7, № 4, 1981

УДК 612.312.2

ФИЗИОЛОГИЯ ЧЕЛОВЕКА И ЖИВОТНЫХ

**ВЛИЯНИЕ ПОВРЕЖДЕНИЯ МЕДИАЛЬНОЙ И ЛАТЕРАЛЬНОЙ ЧАСТЕЙ МИНДАЛИНЫ НА ДВИГАТЕЛЬНУЮ АКТИВНОСТЬ КРЫС**

**М. М. Мгалоблишвили, Р. Корчински**

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

*Институт экспериментальной биологии им. Ненцкого ПАН, Варшава*

Поступила в редакцию 30.04.1981

В камере Скиппера изучалось изменение двигательной активности крыс четырех экспериментальных групп: в двух повреждались двусторонне медиальные или латеральные части миндалины, две были контрольные.

Послеоперационное увеличение числа нажатий на педаль, включающую свет, показали только крысы «медиальной» группы. Обсуждается возможность функциональной дифференциации модуляторных свойств миндалины крыс в регуляции двигательной активности.

В настоящее время с помощью применения разных методов показано, что миндалевидный комплекс у собак [11, 12, 13] и кошек [2, 3, 4] является функционально сложным образованием, в котором обнаруживается четкая топографическая локализация облегчающих и тормозящих зон в отношении регуляции сложных поведенческих актов. В крысах подобное функциональное деление миндалины является спорным [14, 18, 19, 20], хотя анатомически миндалина крыс делится на латеральную и медиальную части [15].

Результаты ряда исследований, направленных на изучение роли миндалины в регуляции двигательной активности крыс, довольно противоречивы. Многими исследователями [8, 10, 21] получено увеличение двигательной активности после повреждения миндалины, по результатам других — она не изменяется [14, 22] или понижается [7]. Такое противоречие в полученных данных можно толковать как результат наличия различных размеров повреждений миндалин, которые могут охватывать противоположные системы. Кроме того, отличие в результатах может быть объяснено и тем, что были применены разные методы измерения двигательной активности крыс [23].

Таким образом, несмотря на то, что изучению влияния миндалины на двигательную активность крыс посвящено немало экспериментальных работ, значение отдельных частей миндалины в регуляции спонтанной двигательной активности крыс остается не полностью выясненным.

Как показали результаты предыдущих опытов [1, 18, 20], двустороннее локальное повреждение медиальной части миндалины вызывает рост мелкой двигательной активности крыс (стойка на задних лапах, короткие перебежки, обнюхивание, «гигиеническое» поведение, усажи-

вание) в электромагнитных клетках, а такое же повреждение латеральной части миндалины не влияет на двигательную активность. Причина усиления спонтанной мелкой двигательной активности крыс пока не ясна. Возможно в электромагнитных клетках у крыс с двусторонним повреждением медиальной части миндалины возникает дефицит обработки информации из внешнего окружения, вследствие чего из-за многих повторных проверок окружающей среды наблюдается повышение двигательной активности [18, 20].

Цель данной работы — выяснить, наблюдается ли функциональная дифференциация миндалины в регуляции двигательной активности крыс при применении иного метода ее измерения — камеры Скиннера. Кроме того, камера Скиннера является удобным методом для проверки нашего предположения о причине увеличения мелкой двигательной активности крыс, поскольку экспериментальным животным дается возможность обогатить бедную стимулами окружающую среду внешним раздражителем.

## МЕТОДИКА

Опыты ставились на белых крысах-самцах линии Вистар (вес — 250—300 г, возраст в начале эксперимента — около трех месяцев). После приручения животные делились на четыре группы: I — медиальная — состояла из 8 крыс, которым двусторонне повреждали медиальную часть миндалины; II — латеральная — из 9 крыс, с двусторонне поврежденными латеральными частями миндалины; III — контрольная латеральная — из 6 крыс; IV — контрольная медиальная — из 6 крыс.

Три-четыре крысы каждой группы жили в клетках-домиках, которые находились в изолированной кабине. За две недели до начала эксперимента в кабине автоматически менялся цикл дня и ночи. С 7 часов вечера до 7 часов утра в кабине было искусственное освещение, с 7 часов утра до 7 часов вечера было темно. Температура среды автоматически поддерживалась около 18°С. Вода и пища животным подавались в неограниченном количестве.

В экспериментальной камере Скиннера площадью 30×30 см на противоположных стенах были прикреплены педали из алюминиевых брусков шириной 4 см. На высоте 4 см от пола они вставлялись в середину стенки, выступая на 2,4 см. Добавочно, на высоте 25 см от пола, над левой педалью находился источник света. Животные, помешанные в камеру, в полной темноте могли свободно двигаться и нажимать лапой на любую педаль. Нажатие на левую педаль сопровождалось включением очень слабого света, который выключался при освобождении педали. Правая педаль служила контролем. Число нажатий на левую и правую педали регистрировалось соответствующими счетчиками. Анализировалось общее число нажатий на педали, а также разница между нажатиями на световую и контрольную педали, поскольку они потенциально отражают разные аспекты поведения в данной ситуации. Опыты ставились ежедневно в одно и то же время. Каждый опыт длился 20 мин. Проводилось 10 опытов до операции и 10 после недельного постоперационного восстановительного периода. Данные последних пяти дооперационных дней и десяти послепроперационных, разделенных последовательно на первые и вторые пятидневные периоды, обрабатывались статистически; достоверность определялась по Т-критерию Стьюдента.

Медиальная и латеральная части миндалины двусторонне электролитически повреждались под нембуталовой анестезией (50 мг/мкг).

внутрибрюшинно) проведением анодного тока силой 2,0 мА в течение 15 с через униполярный вольфрамовый электрод диаметром 0,5 мм с эмалевой изоляцией. Кончик на расстоянии 0,3 мм был очищен от изоляции. Цепь замыкалась ректальным катодом. Координаты брались из атласа Кенига и Клиппела [17]: для медиальной группы — AP+4,5; L $\pm$ 3,1; H—3,0 и для латеральной группы — AP+4,5; L $\pm$ 4,3; H—2,6. Крысам контрольных групп такие же электроды внедрялись двусторонне в латеральную или медиальную части миндалины по тем же координатам, но повреждающий ток не подводили.

По окончании опытов животные забивались, мозг перфузировался раствором нейтрального формалина и фиксировался в том же растворе. Затем на замораживающем микротоме делались серийные срезы, которые окрашивали методом Клювера или Нисселя, и проверялась локализация повреждения.

## РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

На рис. 1 показаны средние величины каждого дня изменений числа нажатий крысами всех экспериментальных групп на обе педали в камере Скиннера до и после операции (восстановительный период — одна неделя). Из рисунка видно начальное увеличение числа нажатий

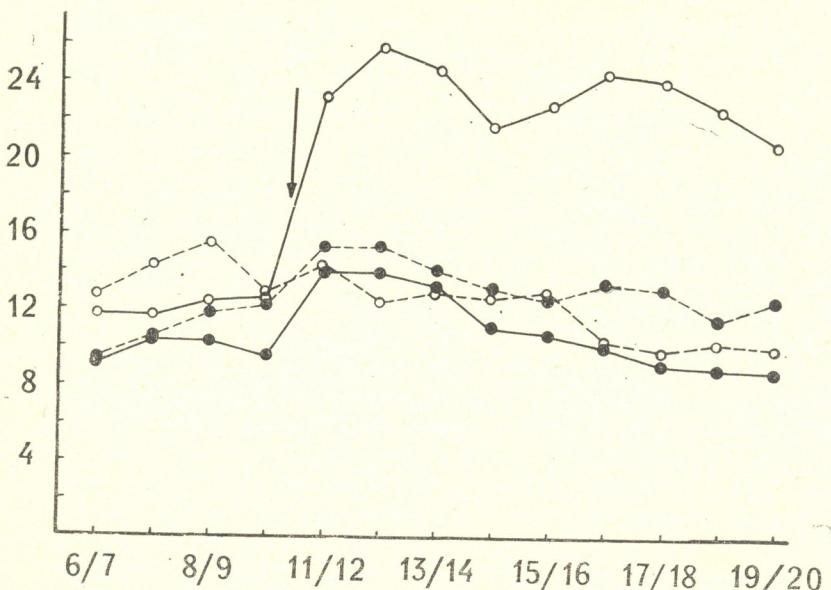


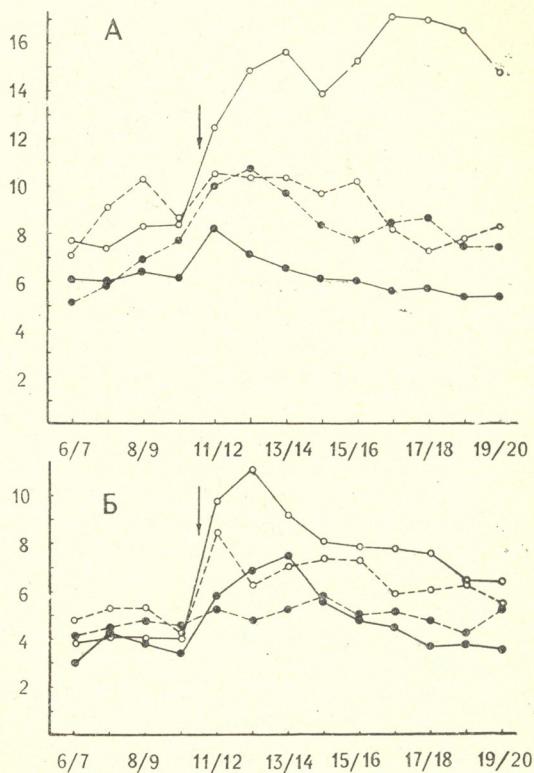
Рис. 1. Динамика нажатий на обе педали крысами всех экспериментальных групп до и после операции: по оси абсцисс — экспериментальные дни; по оси ординат — число нажатий на педали; непрерывная линия — медиальная группа, прерывистая — латеральная; светлые кружочки — группы, подвергшиеся повреждению, темные — контрольные (каждый кружочек обозначает среднюю величину нажатий на педали каждого последующих двух экспериментальных дней; стрелкой отмечена операция)

на обе педали у всех оперированных крыс четырех экспериментальных групп. Однако число нажатий в медиальной группе намного выше и стабильнее, чем в остальных группах. Статистическая обработка результатов этой группы показала достоверное увеличение числа нажатий в постоперационном I ( $p < 0,02$ ) и во II ( $p < 0,01$ ) периодах, по

сравнению с дооперационным периодом. В контрольной медиальной группе статистически достоверное увеличение наблюдается только в I постоперационном периоде ( $p < 0,05$ ). В латеральной группе число нажатий на обе педали почти не изменяется, а в последние экспериментальные дни наблюдается даже понижение, хотя статистически и не достоверное. Контрольная латеральная группа также не показала статистически достоверных изменений.

Более детальный анализ числа нажатий крысами отдельно на левую, включающую свет, и правую — контрольную — педали (рис. 2 А, Б)

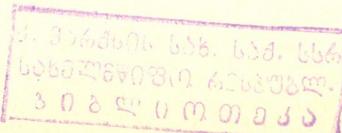
Рис. 2. Динамика нажатий на педаль крысами всех экспериментальных групп до и после операции: А — нажатие на левую педаль; Б — на правую, контрольную. Остальные обозначения те же, что и на рис. 1



показал, что начальное постоперационное увеличение числа нажатий происходит во всех экспериментальных группах и касается обеих педалей. Из рис. 2А хорошо видно увеличение числа нажатий на левую педаль в медиальной группе по сравнению с обеими контрольными и латеральной группами, тогда как число нажатий на правую педаль (рис. 2Б) во всех группах изменяется одинаково.

Статистическая обработка полученных данных показала достоверное увеличение числа нажатий на левую педаль только у крыс медиальной группы ( $p < 0,05$ ,  $p < 0,01$ ). Тогда как на правую педаль достоверное увеличение числа нажатий происходит только в первом постоперационном периоде у крыс медиальной ( $p < 0,01$ ) и латеральной ( $p < 0,05$ ) групп.

Гистологическая верификация локализации повреждений показала, что повреждение охватывает две трети передней части медиальной области миндалины всех крыс медиальной группы. У крыс латеральной группы повреждение, в основном, локализовано вентральной части латеральной области миндалины, на одном уровне анtero-



постериального направления, относительно медиальной части. На рис. 3 представлена схема типичного повреждения медиальной и латеральной частей миндалины.

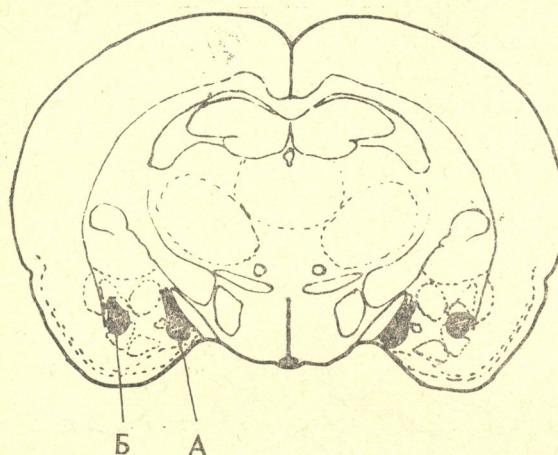


Рис. 3. Схематическое изображение типичного билатерального электролитического повреждения медиальной (А) и латеральной (Б) частей миндалины

## ОБСУЖДЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ

Полученные результаты показали значительное различие между эффектами повреждения медиальной и латеральной частей миндалины. У крыс медиальной группы, по сравнению с крысами латеральной и контрольных групп, число нажатий на обе педали значительно выше. Второе, более эффективное, изменение было отмечено в отношении увеличения числа нажатий на педаль, сопровождаемых включением света в медиальной группе.

Увеличение общего числа нажатий на обе педали у всех оперированных крыс (медиальные, латеральные и обе контрольные группы), после недельного восстановительного периода, можно объяснить данными, полученными на нормальных крысах, которых тестировали в разных экспериментальных ситуациях. Тейп [23] показал, что в камере Скиннера инструментальные реакции, подкрепляемые светом, лишены тенденции к габитуированию, противоположно тем реакциям, которые тестируются другими методами (балансирующие клетки, беличье колесо, открытое поле и т. д.).

Используемая нами камера Скиннера представляет собой небольшое темное пространство, которому крысы должны придавать экологически характерное для них предпочтение. Площадь камеры ограничивает большие двигательные реакции животного и поэтому нажатие на педали можно рассматривать как одну из форм мелкой двигательной активности.

Полученные нами изменения двигательной активности согласуются с работами, проведенными на сытых крысах. Результаты показывают увеличение мелкой двигательной активности после повреждения медиальной части миндалины в балансирующих [21] и электромагнитных клетках [1, 18, 19]. Необходимо отметить большое сходство этих трех экспериментальных ситуаций, в которых животное лишено таких мотиваций, как страх, голод, жажды и любопытство (животные находятся в знакомой экспериментальной ситуации, поскольку все группы крыс тестируются в течение двух недель до операции).

Рост числа нажатий у крыс медиальной группы на педаль, включающую свет, нельзя объяснить нарушением механизма, регулирую-

щего сенсомоторную реактивность. Об этом свидетельствуют результаты ряда исследований [9, 16], в которых удаление разных частей миндалины не изменяет моторные ответы на возбуждение обонятельного, слухового и тактильного анализаторов.

Таким образом, увеличение числа нажатий на педаль, особенно заключающую свет, крысами медиальной группы дает возможность предполагать возникновение у них некоторого дефицита переработки информации из окружающей среды, вследствие чего возникает персеверативное движение к представленному стимулу, тем более если окружающая среда является очень убогой.

Согласно Симонову [5] и Черкесу [6] миндалина играет важную роль в облегчении баланса взаимодействия, динамического сосуществования условных и безусловных рефлекторных систем, связанных с удовлетворением различных потребностей организма. В наших опытах, когда жизненно важные потребности крыс удовлетворены, дефицит модуляторной роли миндалины в регуляции уровня моторной активности выявляется в ее повышении. С другой стороны, выполнение инструментальных реакций, подкрепляемых пищей и водой в идентичной камере Скиннера, понижалось после повреждения медиальной части миндалины [10]. Мебри и Кемпбелл [21] также наблюдали понижение двигательной активности у голодных крыс после повреждения медиальной части миндалины. Возможно, что при возникновении потребности организма в пище или воде дефицит модуляторной роли миндалины выявляется в понижении двигательной активности.

Таким образом, вышеописанные результаты говорят о возможной модуляторной роли миндалины в регуляции моторной активности. Кроме того, полученные данные соответствуют мнению ряда исследователей [2, 3, 4, 11, 12, 13] о функциональной дифференциации отдельных частей миндалины. Усиление двигательного эффекта после повреждения медиальной части миндалины как в экспериментальной ситуации камеры Скиннера, так и в опытах, проводимых в электромагнитных клетках, дают возможность допустить, что модуляторные механизмы моторной активности животных в условиях более или менее скучного информативного окружения локализованы именно в медиальной части миндалины.

## ЛИТЕРАТУРА

1. Корчински Р., Мгалоблишвили М. М. ЖВНД (в печ.)
2. Мгалоблишвили М. М. В сб.: Вопросы нейрофизиологии эмоций и цикла бодрствование-сон, «Мецниереба», Тбилиси, 1, 1974, 64—85.
3. Ониани Т. Н., Нанеишвили Т. Л. В сб.: Проблемы физиологии гипоталамуса, Изд-во Киевского ун-та, 2, 1968, 89—96.
4. Ониани Т. Н., Нанеишвили Т. Л., Коридзе М. Г., Абзинаидзе Е. В. В сб.: Современные проблемы деятельности и строения ц. н. с., «Мецниереба», Тбилиси, 15, 1968, 97—126.
5. Симонов П. А. В кн.: Экспериментальная нейрофизиология эмоций, «Наука», Л., 1972, 93—108.
6. Черкес В. А. ЖВНД, 17, 1, 70—78, 1967.
7. Anand B. K., Groves S. R. J. Neurophysiol., 15, 5, 421—430, 1952.
8. Anderson R. A. Physiol. Behav., 5, 7, 755—761, 1970.
9. Bresnahan S. C. Unpubl. doctoral dissertation, Ohio State University, 1973.
10. Sogtapi C. D., Meueug D. R. Brain Res., 5, 469—476, 1967.
11. Fonberg E. Physiol. Behav., 4, 5, 739—743, 1969.
12. Fonberg E. Acta Neurobiol. Exp., 34, 3, 435—466, 1974.

13. Fonberg E. Acta Neurobiol. Exp., 36, 1/2, 117—127, 1976.
14. Grossman S. P., Grossman L., Walsh L. J. Comp. Physiol. Psychol., 88, 2, 829—850, 1975.
15. Hall E. In: The Neurobiology of the Amigdala, Eleftheriou, Plenum Press, New York, 1972, 95—121.
16. Kirvel R. D. J. Comp. Physiol. Psychol., 89, 8, 882—891, 1975.
17. König J. R., Klippel R. A. The rat brain. The stereotaxic atlas of the forebrain and lower parts of the brain, The Williams and Wilkins Co, Baltimore, 1963.
18. Korczynski R. Acta Neurobiol. Exp., 1980 (in press).
19. Korczynski R., Fonberg E. Acta Neurobiol. Exp., 36, 6, 667—686, 1976.
20. Korczynski R., Fonberg E. Acta Neurobiol. Exp., 39, 4, 227—240, 1979.
21. Mabry P. D., Campbell B. A. J. Comp. Physiol. Psychol., 89, 1, 19—38, 1975.
22. Scialfani A., Belluzzi J. D., Grossmann S. P. J. Comp. Physiol. Psychol., 72, 3, 394—403, 1970.
23. Tapp J. T. In: Reinforcement and behavior. Ed. J. T. Tapp, Academic Press, New York, 1969, 146.

ნუშისებრი კომპლექსის მედიალური და ლატერალური უბნების  
დაზიანების გავლენა ვირთაგვების მოძრაობით აქტივობაზე

შ. გალოგლიაშვილი, რ. კორჩინესკი

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

სოლოეთის მეცნიერებათა აკადემიის ნენციის სახელობის ექსპერიმენტული ბიოლოგიის  
ინსტიტუტი, ვარშავა

### რეზიუმე

სკინერის ბნელ კამერაში ერთ პედალზე დაჭერა იწვევდა სუსტი სინათლის ჩართვას, ხოლო მეორე პედალი საკონტროლო იყო. 4 ექსპერიმენტულ ჯგუფში შესწავლილ იქნა ვირთაგვების მოძრაობითი აქტივობა: 2 ჯგუფს ორმხრივად უზიანდებოდა ნუშისებრი კომპლექსის მედიალური ან ლატერალური უბნები, დანარჩენი ორი ჯგუფი კი საკონტროლო იყო.

პოსტოპერაციულ პერიოდში სინათლის ჩამრთველ პედალზე დაჭერის რიცხვმა მოიმატა მხოლოდ იმ ვირთაგვებში, რომლებსაც დაზიანებული ჰქონდათ ნუშისებრი კომპლექსის მედიალური უბანი. შეიძლება ვივარაუდოთ, რომ ნუშისებრი კომპლექსის მედიალური უბანი მოდულატორულ როლს ასრულებს ვირთაგვების მოძრაობითი აქტივობის ფუნქციური ღიფერენციაციის რეგულაციაში.

# EFFECT OF LESIONS IN THE MEDIAL AND LATERAL AMYGDALA ON THE RAT'S MOTOR ACTIVITY

M. MGALOBLISHVILI, R. KORCZYNSKI

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

Nencki Institute of Experimental Biology, Polish Academy of Sciences, Warsaw, Poland

## Summary

In darkness, in double-lever Skinner box the press of one lever switched on very weak light, while the other was used as a control one. Four groups of rats were tested before and after operations: medial amygdala lesioned, lateral amygdala lesioned and two control groups. The postoperative increase of lever pressing switching on the light was obtained in medial amygdala lesioned rats only. The obtained results are discussed in terms of the functionally differentiated modulatory role of the amygdala in motor activity.

УДК 611.2:616.24-09-053.9

МОРФОЛОГИЯ

## УЛЬТРАСТРУКТУРНЫЕ ОСОБЕННОСТИ АЭРОГЕМАТИЧЕСКОГО БАРЬЕРА В ПРОЦЕССЕ СТАРЕНИЯ И В УСЛОВИЯХ ПАТОЛОГИИ

З. М. Топурия

Тбилисский государственный медицинский институт

Поступила в редакцию 15.01.1981

Материалом исследования для гистометрии, стереометрии, количественной электронной микроскопии, трансмиссионной и сканирующей электронной микроскопии послужили легкие 60 крыс, взятые при патологии (возраст до 12 месяцев) в старческом и позднестарческом периодах жизни (возраст от 18 до 36 месяцев). Автором показана динамика изменений ультраструктур аэродинамического барьера как в старости, так и при хроническом воздействии сварочным аэрозолем конденсации окиси меди. Отмечены характерные изменения базального слоя барьера с утолщением его до 280—500 нм, а также развитие пневмосклероза и эмфиземы. Морфометрическими методами выявлено увеличение площади дыхательной поверхности, являющееся механизмом компенсации процесса гипоксии. Гипертрофия регенераторных процессов в патологии является причиной не только самого патологического процесса, но и условием преждевременного старения организма.

Регенеративные процессы, наблюдаемые в легком на протяжении жизни животного, поддерживают постоянство структуры органа и постоянство его функциональной активности. При этом клеточная и, в особенности, внутриклеточная регенерации обеспечивают не только нормальную жизнедеятельность органа, но и компенсацию нарушенных структур и функций в условиях болезни и старости [6, 7, 8, 9]. Существенным отличием патологического воздействия является значительная, доходящая до размеров уродливой гипертрофии, перестройка всех ультраструктур барьера воздух-кровь. Поддерживаемая гипоксией «перестройка» протекает на разных уровнях клеточной активности и внутриклеточной регенерации и зависит от особенностей строения легкого [2, 3, 4, 11, 14, 15, 16]. Ряд авторов отмечают при патологии изменения базального слоя — «базальной мембранны» барьера воздух-кровь [1, 5, 12, 13, 17]. Указанное состояние базального слоя барьера легких, как показано в единичных электронномикроскопических исследованиях, также выявлено в старческом возрасте [10].

Целью настоящей работы является попытка обосновать изменения, возникающие в ультраструктурах аэрогематического барьера легких при патологии и в старости.

### МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ

Для изучения особенностей механизма действия мелкодисперсных частиц сварочного аэрозоля конденсации окиси меди мы использова-

ли электронную трансмиссионную и сканирующую микроскопию. При этом 30 белых беспородных крыс самцов подвергали ингаляционному воздействию, а 30 крыс служили контролем. Опыт начал над животными в возрасте 45 дней, весом 130 г и закончен через 4 месяца (в возрасте 172 дня). Вес тела экспериментальных животных достигал 446 г, контрольных — 485 г. Эксперимент проводили в специальных ингаляционных камерах ежедневно по 3 ч в течение 100 дней. Концентрацию частиц в воздухе камер поддерживали на уровне 70—80 мг/м<sup>3</sup>. Аэрозоль конденсации окиси меди получали плавлением проволоки, содержащей 100% х. ч. меди. Наплавление проводили с помощью электросварочного преобразователя ПСГ-300 в присутствии кислорода воздуха. Для контроля концентрации пыли в камерах частицы дыма собирали на фильтре АФА-В-10 из ткани ФПП-15. В целях количественной электронной микроскопии структур аэрогематического барьера применяли способ измерения линейных размеров с вычислением стандартной ошибки и доверительных интервалов средних арифметических величин при помощи таблиц. Легкие крыс подвергнуты гистометрии, светооптическому и электронномикроскопическому исследованию. Кусочки легочной ткани фиксировали в 2,5%-ном растворе глютаральдегида и 1%-ном растворе четырехокиси осмия, дегидратировали в спиртах восходящей крепости, заливали в смеси аралдита и эпона. Ультратонкие срезы готовили на ультрамикротоме LKB-8800 III и просматривали в электронном микроскопе ЭМВ-100А. Образцы легочной ткани, предназначенные для сканирующей электронной микроскопии, после дегидратации напыляли металлическим золотом. Трехмерное строение легких изучали в электронном микроскопе Cwicks-can/100.

## РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

Изучение трехмерного строения легкого позволяет отметить значительное увеличение объемов бронхиального и бронхиолярного аппарата. Альвеолярные ходы имеют вид трубчатых структур большого диаметра, в просвет которых открываются устья альвеол. Полости альвеол неглубокие. В смежных альвеолах перегородки укорочены и утолщены, образуют «шпоры». Поверхность выстилки альвеол гладкая. Между редкими, пологими складками цитолеммы обнаруживаются воронкообразные углубления диаметром до 1 мкм, являющиеся зонами выведения детрита из клетки.

В системе альвеолярной эпителиальной выстилки аэрогематический барьер является наиболее тонким участком легочного ацинуса, через структуры которого осуществляется основной объем газообмена. Ультраструктура барьера, изучаемая с помощью трансмиссионного электронного микроскопа, имеет сложное полимембранные строение, по типу биологического гальванического микроэлемента, с типичной электрической схемой. Если рассматривать структуру барьера послойно из просвета альвеолы в направлении легочного капилляра, то барьер представлен: люминарной мембраной, цитоплазмой и базальной мембранный вуали малодифференцированного альвеобласта; базальным слоем; базальной мембраной, цитоплазмой и люминарной мембранный отростка эндотелиальной клетки (рис. 1а, рис. 2).

Альвеолярные клетки, образующие люминарную, обращенную в просвет альвеол поверхность барьера, в процессе физиологической регенерации претерпевают изменения, проходя стадии развития от малодифференцированных до старых и отмирающих клеток. Деление камбимальных эпителиальных клеток респираторных бронхиол завер-

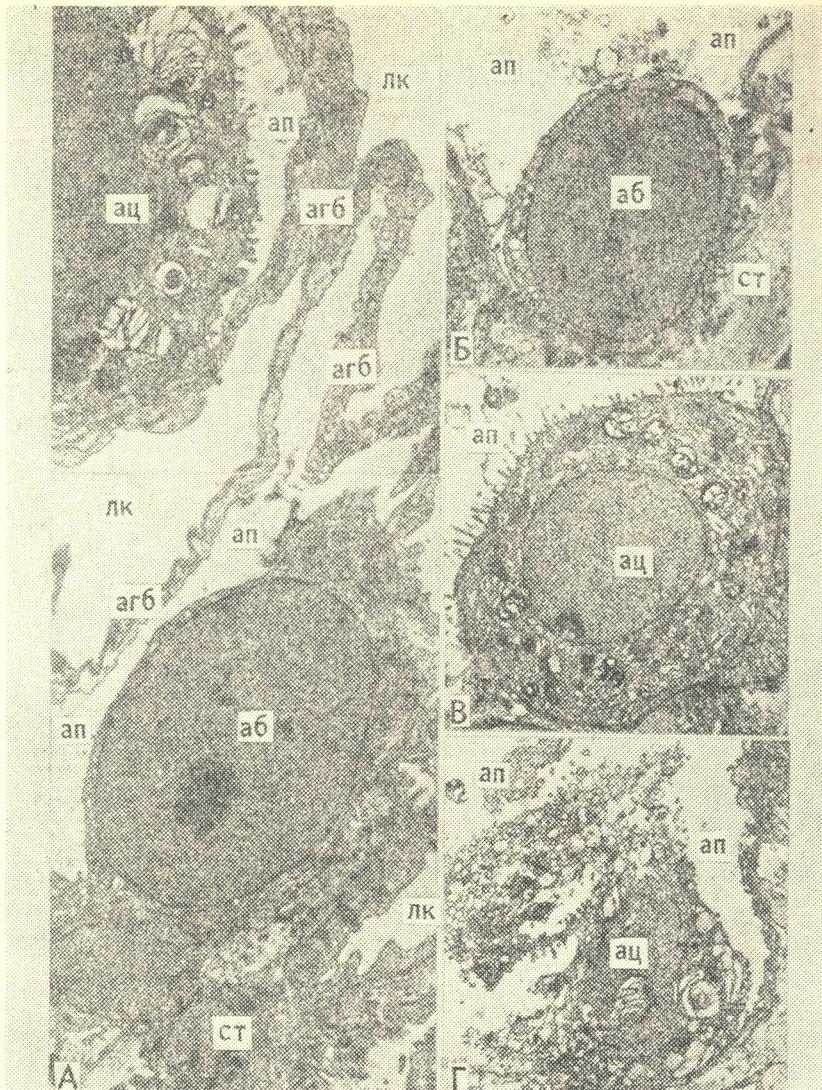


Рис. 1. Электронномикроскопическое строение легкого белой беспородной крысы: а — структура ткани респираторного отдела легких крысы; панорама электроннограмм позволяет одновременно увидеть альвеолярные клетки разных стадий дифференцировки (3 месяца).  $\times 7\,000$ ; б — малодифференцированная альвеолярная клетка (8 месяцев).  $\times 4\,000$ ; в — дифференцированная альвеолярная клетка (8 мес.).  $\times 4\,000$ ; г — гибель старой альвеолярной клетки в клеточной системе эпителиальной выстилки альвеол (8 месяцев).  $\times 4\,000$ . Здесь и на рис. 2 и 3: ап — альвеолярная полость; лк — легочный капилляр; агб — аэрогематический барьер: 1 — люминарная, 2 — базальная мембранны альвеолластов; б — базальный слой барьера; 3 — базальная, 4 — люминарная мембранны вуалей эндотелиоцитов; аб — альвеоласт; ац — альвеолоцит; э — эритроцит; лс — лимфатический синус; ст — соединительная ткань; кф — коллагеновые фибриллы

шается образованием альвеолярной клетки стадии развития мало-дифференцированной клетки. Альвеолобласт имеет тонкие, длинные (до 20–40 мкм) и плоские (от 0,07 до 0,2 мкм) отростки — вуали; в цитоплазме — небольшое количество ультраструктур.

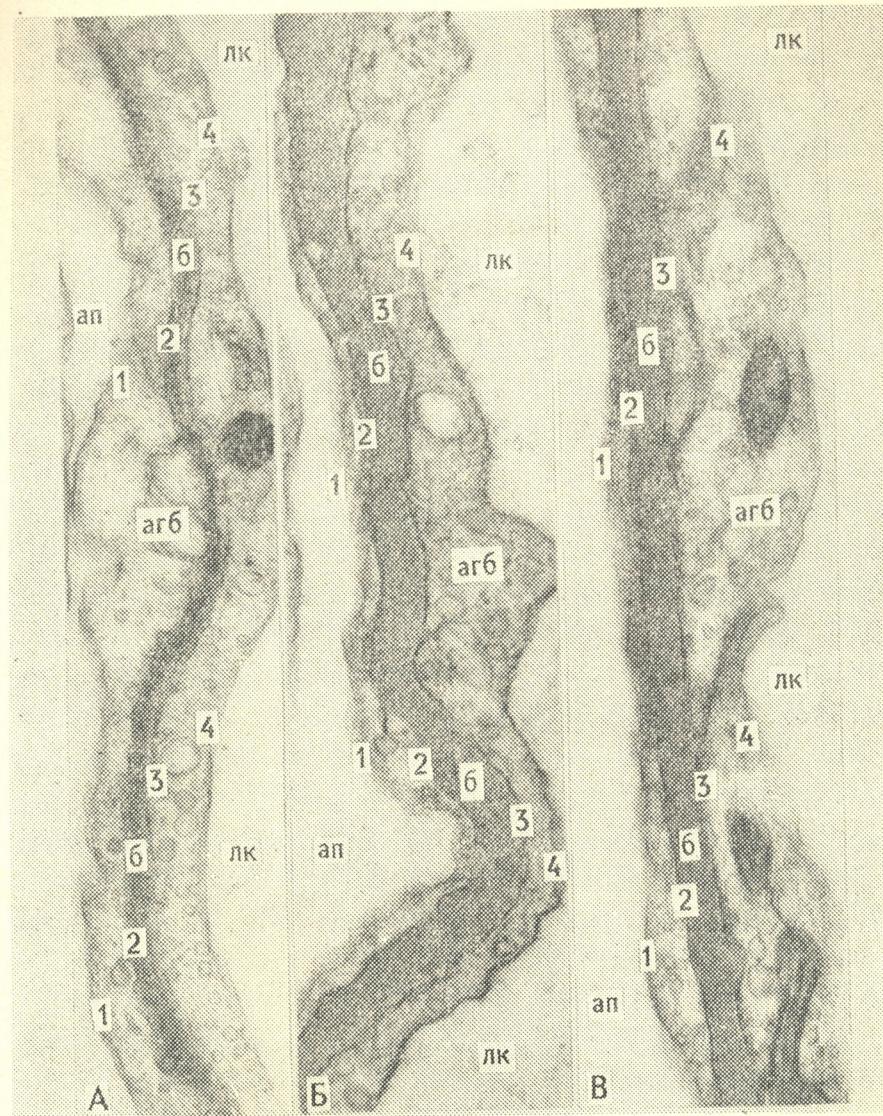


Рис. 2. Изменения аэрогематического барьера в норме и при патологии: а — ультраструктура барьера зрелого животного в возрасте 12 месяцев (б — 80 нм, агб — 500 нм).  $\times 43\ 200$ ; б — ультраструктура барьера зрелого животного в возрасте 12 месяцев при патологии (б — 500 нм, агб — 800 нм).  $\times 43\ 200$ ; в — ультраструктура барьера старого животного в возрасте 36 месяцев (б — 280 нм, агб — 780 нм).  $\times 43\ 200$

ем диффундирующих газов проходит через вуали клетки. В стадии роста и дифференцировки происходит укорочение вуалей, и в завершающей стадии дифференцировки альвеолярная клетка приобретает ку-

бическую форму. Последняя стадия старения и отмирания сопровождается разрушением клетки (рис. 1). Как показали исследования, в результате завершения цикла физиологической регенерации альвеолярных клеток происходит полная замена эпителиальной выстилки новыми альвеолярными клетками, и цикл клеточной регенерации повторяется до старения и гибели самого организма.

Базальный слой (у некоторых авторов «базальная мембрана») является постоянным компонентом аэрогематического барьера. Регенерация базального слоя, как показала электронная микроскопия, связана с функционированием эпителиальных и эндотелиальных клеток. В процессе онтогенеза легкого происходит постепенное его утолщение от 15 до 280  $\text{нм}$ . Вещество базального слоя биохимически представлено гликопротеидами и коллагеноподобными белками, дает широкоположительную реакцию, импрегнируется азотнокислым серебром и окрашивается пикрофуксином в красный цвет. Базальный слой в старческом и позднестарческом периодах имеет высокую электронную плотность (в 3,5 раза превышает толщиной базальный слой барьера зрелого животного в период стабильного роста). Причем общая ширина барьера воздух-кровь остается во всех возрастных группах в пределах 0,45—0,75  $\text{мкм}$  (рис. 2). Базальный слой не плотно прилегает к базальным цитомембранным эпителиальной и эндотелиальной выстилкам барьера — остается щелевидное пространство, образующее начальные лимфооттоковые пути, сообщающиеся с межуточной тканью нереспираторных отделов легкого.

Тонкая часть барьера, представленная в основном легочными капиллярами, переходит в утолщенные до 40  $\text{мкм}$  структуры межальвеолярных и междолевых перегородок. Базальный слой делится на два листка толщиной до 40  $\text{нм}$ , прилежащих, с одной стороны, к базальной цитомемbrane альвеолярных клеток, а с другой — к базальной цитомемbrane эндотелиальных клеток. Между названными листками базального слоя находится межуточное вещество соединительной ткани, коллагеновые фибриллы, волокна, пучки коллагена, эластическая ткань и соединительнотканые клетки — фибробласты и их предшественники. Коллаген выполняет роль не только опорно-механического каркаса, но и составляет главную пространственную структуру сообщающихся полостей и ячеек, предназначенных для циркуляции межуточной жидкости. Разрастание соединительной ткани в нереспираторных отделах легкого способствует укорочению и атрофии части межальвеолярных перегородок с образованием «шпоровидных выступов».

При многократном ингаляционном воздействии в легких выявляются значительные изменения всех структур аэрогематического барьера. Возрастающая метаболическая активность клеток альвеолярной выстилки и ускорение клеточной физиологической регенерации эпителия являются причиной заполнения альвеол клеточным детритом и фосфолипидами, представляющими основу морфологического субстрата легочного альвеолярного протеиноза. Описанному предшествуют ультраструктурные изменения аппарата органоидов клетки. Заметно увеличивается количество вакуолей, различных по форме и величине, везикул Гольджи, мультивезикулярных телец, плотных телец и осмифильных пластинчатых тел. Гистохимически в пластинчатых структурах определяются фосфолипиды типа сфингомиелина и цереброзидов. Фосфолипиды пластинчатых осмифильных тел не участвуют в процессе внутриклеточной реконструкции и удаляются из клетки как шлаковые продукты.

Эпителиальная выстилка альвеол отличается от вышеописанной

наличием всех этапов клеточной дифференцировки альвеолярных клеток. Малодифференцированные клетки имеют обширные цитоплазматические вуали, распространяющиеся в радиусе до 40 мкм; ядро — 10—12 мкм; кариоплазма — незначительной плотности; цитоплазма — с небольшим количеством органелл (рис. 1б). Стадия роста и дифференцировки представлена полным рядом альвеолярных клеток различных этапов зрелости. Тела клеток имеют укороченные отростки; ядра — 7—9 мкм. Ядрышковое РНК перемещается под оболочку. В составе ультраструктур нарастает количество мультивезикулярных телец и плотных телец. Появляются пластинчатые осмиофильные тела (рис. 1в). Онтогенез альвеолярных клеток в стадии старения и отмирания характеризуется быстро завершающейся дифференцировкой ультраструктур. Тело клетки уменьшается до 15 мкм. Вуали малодифференцированных клеток закрывают всю диффузионную поверхность стареющих клеток. Нарастают процессы ультраструктурной гипоксии; ядро — 5—6 мкм, пикнотичное; цитоплазма выполнена плотными тельцами и пластинчатыми осмиофильными телами. Явления некробиоза сопровождаются выбросом детрита в альвеолярную полость (рис. 1г). В связи с постепенным вытеснением детрита отмирающей клетки место последней, на базальном слое барьера, замещается отростками близлежащих малодифференцированных альвеолобластов. Дефекта в альвеолярной выстилке не образуется.

Морфометрический анализ структур аэрогематического барьера позволил обнаружить на подавляющей площади респираторного отдела, составляющей 70%, интенсификацию смен поколений альвеолярных клеток и утолщение базального слоя до 400—500 нм. По-степенно с развитием гипоксии в междолевых перегородках увеличивается количество волокон коллагена (рис. 3а). Развивается пневмосклероз и эмфизема легких.

Гистометрия и стереометрия легких животных в период стабильного роста (7—18 месяцев), в старческом и позднестарческом периодах (24—36 месяцев) также позволили провести сравнительный анализ изменений легких и выявить критерии и особенности функциональной морфологии старческого возраста и патологии.

1. В период стабильного роста количество альвеол возрастает к 12 месяцам до  $20,8 \cdot 10^6$  шт.; диаметр альвеол приближается к 62,44 мкм; площадь альвеолярной поверхности на границе раздела воздух-кровь — 2474,4 см<sup>2</sup>; объем воздуха легких, равный 3,56 см<sup>3</sup>, составляет 40,8% объема всего легкого.

2. Легкие животных в старческом и позднестарческом периоде имеют уменьшенное количество альвеол —  $11,3 \cdot 10^6$ ; при этом отмечается увеличение диаметра альвеол — 110,16 мкм и возрастает площадь альвеолярной поверхности — 3599,6 см<sup>2</sup>; увеличивается объем воздуха легкого — 9,4 см<sup>3</sup> (64,6% объема всего легкого).

3. На высоте патологии животные находились в периоде стабильного роста. Количество альвеол составило при этом лишь  $10,1 \cdot 10^6$  шт.; диаметр альвеол был равен 114,8 мкм; площадь альвеолярной поверхности на границе раздела воздух-кровь — 4068,2 см<sup>2</sup>; объем воздуха легкого — 14,28 см<sup>3</sup> (70% объема всего легкого).

Необходимо отметить, что все измерения получены на свежем (не фиксированном) легком.

Проведенные гистологические, электронномикроскопические и морфометрические исследования позволили обобщить материалы по функциональной морфологии легких животных в старости и при патологии (табл. 1).

Отмеченные нарушения процесса диффузионной функции барьера

### Функциональная морфология легких крыс в старости и при патологии

#### Функциональная морфология старости

1. Нарушение диффузионной функции респираторного отдела легких в связи с утолщением в 3 раза базального слоя барьера воздух-кровь.
2. Тканевая гипоксия и гипоксемия, как «норма» стареющего организма; гипоксическая активность фибробластов и фиброз волокон соединительной ткани нереспираторного отдела легких; повышенная воздушность легочной ткани, так называемая старческая эмфизема легких.
3. Деформация сосудов лимфатического звена микроциркуляции нереспираторного отдела легких как проявление старения организма.
4. Нарушение общих окислительных процессов в организме; нарушение обмена веществ.
5. Старость.

#### Функциональная морфология при патологии

1. Нарушение диффузии газов в связи с утолщением в 5—7 раз базального слоя барьера воздух-кровь; гипоксия на субклеточном уровне; альвеолярный протеиноз.
2. Тканевая гипоксия и гипоксемия; анемия, гипоксическая активность фибробластов нереспираторного отдела легких; диффузный пневмосклероз; панцирная эмфизема легких.
3. Деформация синусов лимфатических капилляров, атрофия и облитерация их просветов; изменение гемо- и лимфомикроциркуляции; увеличение гидростатического давления в легочном сосудистом русле; динамическая недостаточность лимфатического дренажа легкого; гипертрофия правого желудочка сердца.
4. Нарушение общих окислительных процессов в организме; нарушение обмена веществ.
5. Анализ изменений в легких животных при патологии указывает на преждевременное старение.

воздух-кровь, с появлением тканевой гипоксии и гипоксемии, приводят к изменению в трехмерном строении эритроцитов периферической крови. Замечено, что одновременно с утолщением базального слоя барьера при патологии происходит расширение подэпителиальных пространств с образованием широких лимфатических щелей. Накапливающаяся в подэпителиальных пространствах жидкость способствует нарушению гемо- и лимфомикроциркуляции. В силу своих анатомических особенностей синусы лимфатических капилляров являются наименее защищенными от механического сдавливания при деформационных процессах. Как показали данные сканирующей электронной микроскопии, грубоволокнистая соединительная ткань и клеточные шлаки сдавливают лимфатические капилляры, усиливая их непроходимость и вызывая атрофию. Просвет таких капилляров нередко запустевает, подвергается облитерации, с образованием на месте сосуда плотных извитых тканей (рис. 3 б, в).

Таким образом, описание физиологической регенерации альвеолярных клеток, в структуре альвеолярной выстилки ацинусов, соответствует понятию онтогенетического развития альвеолярной клетки в системе интегрированной ткани и ничего общего не имеет со старостью целого организма. Небольшие изменения в строении аэрогематического барьера, как показали электронномикроскопические исследования, присущи определенному возрасту и могут ускользать при использовании метода световой микроскопии. Бессспорно также, что постепенное утолщение базального слоя и новообразование соединительной ткани являются принадлежностью стареющего организма, как впрочем и тканевая гипоксия, которая становится также нормой пожилого возраста.

Ингаляционное воздействие значительно повышает функционирование структур альвеолярной выстилки, ведет к быстрой смене этапов развития альвеолярных клеток от малодифференцированных (через промежуточные стадии роста и дифференцировки) до старения, отми-

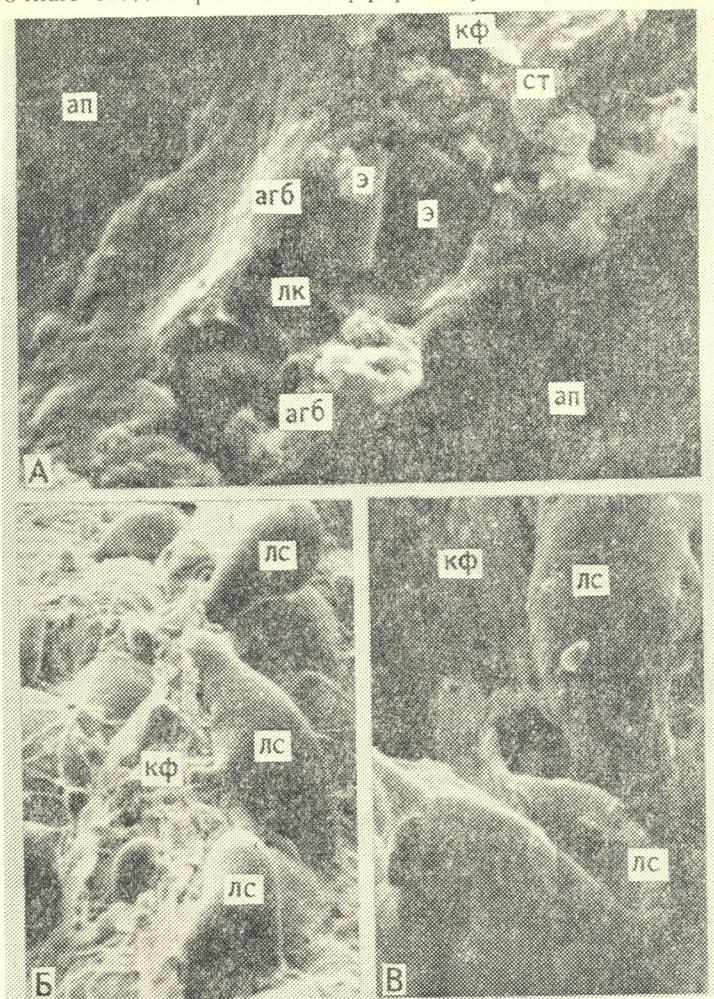


Рис. 3. Трехмерное изображение легкого старого животного в возрасте 36 месяцев: а — утолщение перегородки смежных альвеол, переходящей в фиброзированную волокнистую ткань нереспираторного отдела легкого.  $\times 10\,000$ ; б — расширение синусов части лимфатических посткапилляров в перибронхиальной и периваскулярной ткани.  $\times 1000$ ; в — атрофия синусов лимфатических капилляров с частичной облитерацией просвета, выявленная среди грубо утолщенных и извитых коллагеновых волокон междольковых перегородок.  $\times 20\,000$

рания и замены их новыми клеточными генерациями. С дифференцированием альвеолярной клетки появляются цитоплазматические контейнеры — осмиофильные пластинчатые тела, предназначенные для сбора метаболических шлаков и удаления последних из клетки. Появление осмиофильных тел не имеет отношения к трансформации митохондрий. Цитоплазматические шлаки — осмиофильный пластинча-

тый материал, фосфолипиды, разрушенные ультраструктуры не имеют связи с образованием пленки поверхностно-активного вещества, а фосфолипиды, будучи выброшенными в альвеолярную полость, превращаются в псевдокристаллические структуры мыл и жирных кислот и выводятся через бронхи или фагоцитируются альвеолярными макрофагами.

Специфическая функция альвеолярного эпителия на границе с внешней средой способствовала в процессе эволюции широкому развитию регенераторных механизмов, позволяющих очень быстро восстанавливать ультраструктуры при патологических воздействиях, что, безусловно, отражает «интересы» целого организма. Одним из необходимейших условий внутриклеточной регенерации является экономия строительных материалов в клетке, о чем свидетельствует строгий внутриклеточный контроль за сохранением актива мембранных формаций. Мембранные везикулы, вакуоли, мультивезикулярные и плотные осмиофильные тельца принимают участие только в процессе внутриклеточных перемещений метаболических продуктов, энзимов и не покидают клетку. Особое место в структуре аэрогематического барьера занимает базальный слой, который способен в состоянии функциональной капилляризации пропускать макромолекулы и твердые частицы пыли диаметром от 3-х до 400 мкм. Ускоренная смена клеток альвеолярной выстилки, связанная с функциональным напряжением, сопровождается значительным ее утолщением. Возможное расширение подэпителиальной зоны аэрогематического барьера, а также появление лакун и щелей в основном веществе соединительной ткани объясняется функциональным образованием лимфатических путей, выполняющих роль дегидратационных систем. При этом быстрее всего повреждается лимфатическое звено микроциркуляций. Патологическое воздействие является пусковым механизмом внутриклеточных регенераторных процессов, регулирующих ритмы физиологического обновления ультраструктур и клеток. Скорость reparативных процессов непосредственно зависит от силы и длительности внешнего раздражителя.

Таким образом, структура аэрогематического барьера легких в онтогенезе изменяется в результате утолщения и огрубения материала базального слоя, что составляет основу морфологического субстрата гипоксии всякого стареющего организма. Увеличение площади дыхательной поверхности, отмечаемое в старости, является механизмом компенсации процесса гипоксии и морфологическим субстратом так называемой старческой эмфиземы легких. При патологии все процессы, характерные для нормы, гипертрофированы. Патология сопровождается диффузным пневмосклерозом, эмфиземой легких и гипертрофией правого желудочка сердца. В условиях патологического воздействия быстро наступает преждевременное старение организма.

## ЛИТЕРАТУРА

- Бацура Ю. Д. Бюлл. экспер. биол. и мед., 10, 113—115, 1970.
- Бацура Ю. Д. Арх. патол., 4, 54—61, 1971.
- Бацура Ю. Д., Каспаров А. А., Кругликов Г. Г., Молодкина Н. Н. Гигиена труда, II, 56—57, 1980.
- Величковский Б. Т. Фиброгенные пыли, Волго-Волжское изд-во, Горький, 1980.
- Муравьев Г. Н., Фурманчук А. В. Арх. патол., 4, 71—77, 1972.
- Саркисов Д. С. Регенерация и ее клиническое значение, «Медицина», М., 1970.
- Саркисов Д. С. Онтогенез, 2, 115—122, 1973.

8. Саркисов Д. С., Пальчин А. А., Попова И. В., Бадикова З. М. А. К., Втюрина Б. В. Арх. патол., 1, 80—87, 1975.
9. Струков А. И. Арх. патол., 4, 3—8, 1971.
10. Топурия З. М. Сообщения АН ГССР, 86, 3, 741—744, 1979.
11. Шахламов В. А. Капилляры (электронномикроскопическое строение), «Медицина», М., 1971.
12. Шахламов В. А., Крючкова Г. С., Фирсов В. Д. Арх. патол., 7, 23—30, 1971.
13. Alcozer G. Rass. Patol. App. Resp., 1, 29—35, 1979.
14. Creasly J. M., Pattle R. E., Schock C. J. Physiol. (Gr. Brit.), 2, 35—37, 1974.
15. Croxatto Os. C. Medicina (Argent.), 4, 549—560, 1972.
16. Laslo J., Antal R. Acta Histochem. (Brit.), 1, 58—69, 1975.
17. Weibel E. R., Knight B. N. J. Cell Biol., 21, 367, 1964.

აეროჰემატური ბარიერის ულტრასტრუქტურული თავისებურებანი  
დაგერების პროცესში და კათოლოგიის პირობებში

#### 8. ორგანიზაცია

თბილისის სახელმწიფო სამედიცინო ინსტიტუტი

#### რ ე ზ ი უ მ ე

თეთრ ვირთაგვებში შესწავლილ იქნა აეროჰემატური ბარიერის ულტრასტრუქტურული თავისებურებანი დაბერების დროს და ისეთ პირობებში, როცა ორგანიზმები ქრონიკულად ვმოქმედებდით სპილენძის უანგის კონდენსირებული აეროზოლით, რომელსაც ლითონთა შესაღულებლად იყენებენ ხოლმე.

გამოიჩინა, რომ დაბერების პროცესში და ხსენებული აეროზოლის ზემოქმედების შედეგად განვითარებული პათოლოგიის დროს სქელდება აეროჰემატური ბარიერის ბაზალური შრე 280—500 ნმ-დე, რაც აღმართ დაბერებული ორგანიზმისთვის დამახასიათებელი ჰიპოქსიის ერთ-ერთი მიზეზი უნდა იყოს. ამასთან ერთად ვითარდება პნევმოსკლეროზი და ემფიზემა. მორფომეტრიული მეთოდების გამოყენებით გამოიჩინა ისიც, რომ სასუნთქი ზედაპირის ფართობი იზრდება, რაც ჰიპოქსიის პროცესის კომპენსატორული მექანიზმის გამოხატველი უნდა იყოს. შეიძლება დავასკვნათ, რომ პათოლოგიის დროს რევენტაციულ პროცესთა ჰიპერტონია არა მარტო თვით პათოლოგიური პროცესის მიზეზია, არამედ ორგანიზმის ნააღრევად დაბერების მიზეზიც უნდა იყოს.

### ULTRASTRUCTURAL CHARACTERISTICS OF AERO-HEMATIC BARRIERS IN AGING AND IN PATHOLOGY

Z. M. TOPURIA

State Medical Institute, Tbilisi, USSR

#### Summary

The lungs of 60 rats under pathology and in different aging groups served as the material for histometrical, stereometrical, electron microscopical, transmissive and scanning electron microscopical studies.

The dynamics of ultrastructural changes of the aero-hematic barrier in aging and under the action of chronic inhalation of welding aerosol of cupric sulfate was shown. Specific changes of the basal layer of the aero-hematic barrier evidenced by its thickening up to 280—500 nm, as well as the development of pneumosclerosis and pulmonary emphysema were noted. Morphometry has demonstrated the increase of the respiratory surface, as a manifestation of compensatory-adaptive processes of hypoxia. The hypertrophy of regenerative processes is not the reason for the pathological process itself, but also the reason for early aging of the organism.

ИЗВЕСТИЯ АКАДЕМИИ НАУК ГССР  
Серия биологическая, т. 7, № 4, 1981

УДК 611—019

АНАТОМИЯ

## К МОРФОЛОГИИ СПИННОМЗГОВЫХ НЕРВОВ РЫБ

В. С. Абашидзе

Тбилисский государственный медицинский институт

Поступила в редакцию 30.04.1981

Методом анатомической препаратировки были изучены спинальные нервы трех различных в систематическом или экологическом отношениях представителей костистых рыб (черноморской кефали—*Mugil cephalus L.*, обыкновенного морского языка—*Solea lascaris (Risso)* и морского конька—*Hippocampus guttulatus Cuv.*

Наиболее характерное для костистых рыб устройство спинальных нервов имеет кефаль, что вполне соответствует ее активному пелагиальному образу жизни. Специфические особенности в устройстве спинальных нервов морского конька обусловлены характером локомоции этого животного; форма передвижения морского языка привела к вторичным регressiveным изменениям плавника и соответствующих нервных сплетений.

Изучение устройства спинальных нервов рыбы имеет большое значение для сравнительной анатомии периферической нервной системы позвоночных животных. Однако, несмотря на очень ценные исследования Горста [3], Гулта [2], Джонстона [4] и др., этот вопрос все еще остается недостаточно изученным.

В данной работе мы стремились, по возможности, восполнить этот пробел. С этой целью мы анатомически изучили по два экземпляра обыкновенного морского языка и черноморской кефали и три объекта морского конька.

Обыкновенный морской язык [*Solea lascaris (Risso)*] обычно держится на глубинах от 20 до 60 м, иногда заходит глубже (до 230 м). Морские языки питаются главным образом ракообразными, мелкими моллюсками, а также мелкой рыбой, главным образом, песчанкой [1]. Они имеют овальное тело, достигающее 61 см; глаза расположены на правой стороне тела, головной и анальные плавники редуцированы. Значительные изменения претерпели брюшной и анальные плавники, окаймляющие у этих животных почти все тело, за исключением головы и хвоста. Морской язык имеет 36 пар спинальных нервов, условно подразделяющихся на нервы отдельных областей, так как четко определить каудальную границу головы нельзя ввиду отсутствия свободного края у предкрышки, аrudимент анальных плавников, расположенный сразу за головой, не может служить четким ориентиром начала хвоста. Все 36 пар нервов имеют примерно одну и ту же толщину и длину дорсальных и вентральных ветвей спинальных нервов.

Морские языки перемещаются не посредством плавников, а волнобразными движениями всего тела. Эта особенность локомоции нашла свое отражение в редукции плавников, в почти полной симметрии те-

ла, а также в однотипном ветвлении спинальных нервов, отсутствии сплетений грудного и анального плавников и в других морфологических особенностях нервов. Центральные ветви всех спинальных нервов, кроме хвостовых, не образуют связей. Последние 4 нерва, начиная с 35-го, последовательно соединяясь друг с другом, образуют нервный стволик, разветвляющийся в мышцах и коже хвоста (рис. 1).

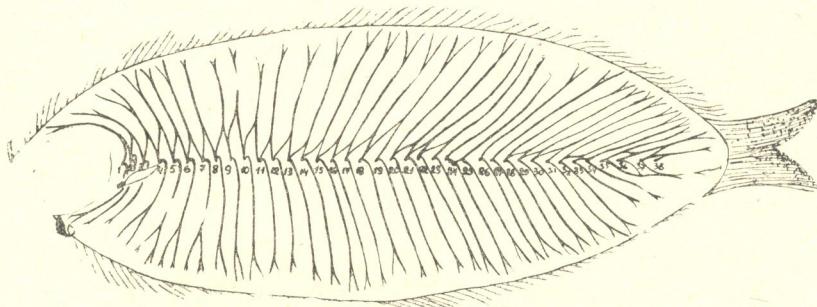


Рис. 1. Спинальные нервы морского языка

Дорсальные ветви почти всех спинальных нервов, кроме 24, 25, 26 и 27-го устанавливают друг с другом связи, а более толстые хвостовые дорсальные ветви формируют хвостовое сплетение.

Следовательно, спинальные нервы морского языка характеризуются почти полной гомологичностью, форма ветвления вентральных и дорсальных ветвей не обнаруживает существенных особенностей. Отсутствие сплетений, симметрия, предельное упрощение формы спинальных нервов следует рассматривать как следствие утраты конечностей и равномерного участия всего тела в локомоции животного.

**Черноморская кефали** [*Mugil cephalus L.*]. Все кефали — хорошие пловцы. Они очень подвижны, обладают способностью выпрыгивать из воды, прыгают через находящиеся на поверхности предметы. Размер тела кефали может достигать 50 см. Ее пищу, в основном, составляют детрит и мелкие беспозвоночные [1].

У кефали 22 пары спинальных нервов. Вентральные ветви трех первых нервов разветвляются в грудном плавнике. Ветви 1 и 2-го нервов в самом начале делятся на тонкие вентральные и более толстые дорсальные (рис. 2), соединяющиеся под острым углом и соответственно формирующие вентральный и дорсальный стволы. Их ветви иннервируют грудной плавник. 3-й нерв имеет такую же толщину, как и два первых, но в образовании плечевого сплетения участия не принимает и на конечные ветви разделяется в непосредственной близости от плавника. Дорсальная группа плечевого сплетения развита слабее вентральной. Это позволяет заключить, что разгибание и супинация с самого начала были слабее выражены и поэтому им соответствует более слабый нервный аппарат.

Брюшные плавники расположены рядом с грудными, иннервируются 4 и 5-м нервами. Аналльный плавник иннервируется пучками 12, 13, 14 и 15-го нервов. В одном случае (рис. 2) в 12-й нерв включался пучок 11-го нерва и поэтому иннервация анального плавника осу-

ществлялась пятью нервами. Разделение нервов анального плавника на конечные ветви происходит дистально, вблизи плавника.

Иннервация хвоста кефали осуществляется вентральными и дорсальными нервами, образующими вентральные и дорсальные хвостовые сплетения. Отмечается некоторое утолщение этих нервов (с 19-го по 22-й). Наибольшей толщины достигает 21-й нерв. Краинальная граница вентрального хвостового сплетения соответствует 19-му, а дор-

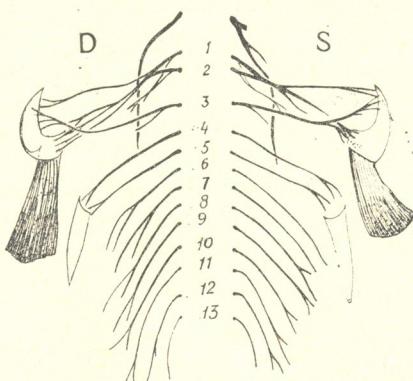


Рис. 2. Спинальные нервы  
черноморской кефали

сального — 20-му нерву. В одном случае (рис. 3) вентральные хвостовые нервы не устанавливали между собой связей и, следовательно, не образовывали хвостового сплетения. На этом же объекте дорсальные

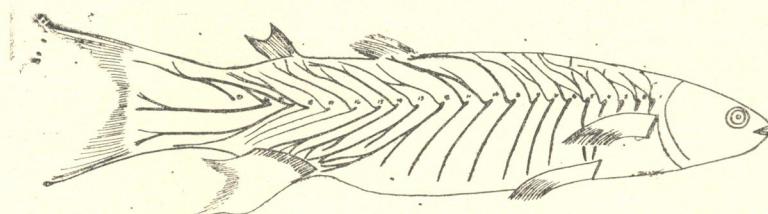


Рис. 3. Спинальные нервы черноморской кефали, правая сторона

хвостовые нервы были значительно толще вентральных. Конечные ветви вентрального сплетения содержали пучки пяти, а дорсального сплетения — четырех нервов.

Между дорсальными ветвями спинальных нервов, иннервирующими спинные плавники, существуют связи.

Морской конек [*Hippocampus guttulatus* Cuv.] — малоподвижная рыба с характерными медленно качающимися движениями. Тело ее скажено с боков и достигает в длину 10—12 см. Передняя часть заключенного в костный панцирь тела активного участия в локомоции не принимает. Хвост удлинен, он представляет собой хватательный орган, которым морской конек цепляется за водоросли. Трубчатое рыло действует как пипетка — при резком раздувании щек добыча быстро втягивается в рот. Заметив небольшого рака, морской конек поворачивает рыло в удобное положение, внезапно втягивает и заглатывает его [1].

Морской конек имеет 15 пар спинальных нервов (первый — нерв боковой линии). Промежутки между местами выхода спинальных нервов из межпозвоночных отверстий меняются по ходу позвоночного стол-

ба. Очень близко расположены 2 и 3-й, а наиболее удалены друг от друга 3, 4, 5, и 6-й нервы.

Плечевое сплетение морского конька образуется вентральными ветвями 2, 3, 4 и 5-го нервов (самыми толстыми нервами этого животного). 2 и 3-й, соединяясь под острым углом, образуют нерв, разде-

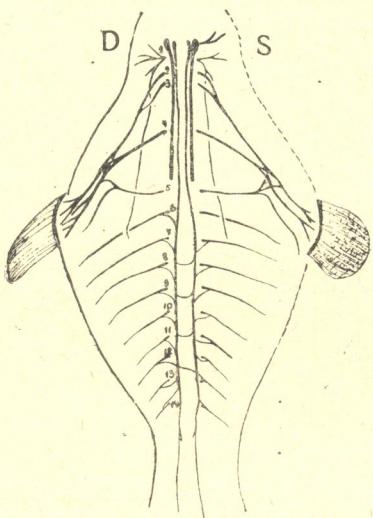
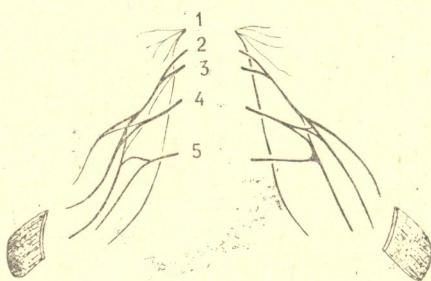


Рис. 4. Спинальные нервы морского конька, вентральная поверхность

ляющийся на несколько толстую вентральную и более тонкую дорсальную части (рис. 4). В двух случаях от 3-го нерва в самом начале отделялась ветвь, соединяющаяся с дорсальной ветвью 4-го нерва. Последний делится на вентральную и дорсальную ветви, соединяющиеся соответственно с вентральной и дорсальной частью ствола, образован-

Рис. 5. Нервы плечевого сплетения морского конька, вентральная поверхность



ногого слиянием 2 и 3-го нервов. В одном случае (рис. 5) 4-й нерв делится на 3 ветви, благодаря чему в плечевом сплетении можно выделить как бы 3 яруса.

Форма сплетения грудного плавника обнаруживает некоторое сходство с плечевым сплетением птиц — животных, чьи нервы претерпели значительные изменения в связи с узкой специализацией функции.

Наиболее вариабельным элементом плечевого сплетения морского конька является 5-й нерв. Чаще всего он делится на две ветви, одна из них соединяется с дорсальной группой сплетения, другая — разветвляется в мышцах плавника. Реже 5-й нерв целиком соединяется с дорсальной частью плечевого сплетения, и тогда ветви этой части содержат волокна 2, 3, 4 и 5-го нервов.

Вентральная группа, иннервирующая вентральную мускулатуру плавника, чаще формируется четырьмя, а дорсальная — лишь тремя нер-

вами. Иннервация спинного плавника осуществляется дорсальными ветвями 5, 6, 7 и 8-го нервов.

Хвостовые нервы связей друг с другом не устанавливают и хвостового сплетения не образуют.

В заключение следует указать, что характер локомоции и другие экологические особенности четко проявляются в устройстве спинальных нервов рыбы.

На примере морского языка легко проследить за тем, как редукция плавников, передвижение посредством волнообразных движений всего тела повлекли за собой почти полное исчезновение сплетений, предельно упростили характер ветвления и обусловили почти полную симметрию и дедифференциацию спинальных нервов. Лишь нервы хвоста, являющегося органом движения, формируют центральное и дорсальное хвостовые сплетения.

В противоположность морскому языку, кефали — хорошие пловцы, иннервация грудного плавника у них осуществляется тремя довольно толстыми нервами, причем два первых образуют *plexus brachialis*.

Деление нервов этого сплетения на конечные ветви происходит дистально, в пределах плавника.

В составе плечевого сплетения кефали можно выделить более развитую центральную и менее развитую дорсальную группы. Это позволяет заключить, что функция сгибания с самого начала превалирует над разгибанием.

Грудные плавники малоподвижного морского конька служат и для удержания тела, что обусловило достаточное развитие и вариабельность плечевого сплетения.

## ЛИТЕРАТУРА

1. Никольский Г. В. Частная ихтиология, «Наука», М., 1950.
2. Gupta O. P. Anat. Anz., Bd. 131, 39—50, 1972.
3. Van der Horst C. Handbuch der vergleichenden Anatomie der Wirbeltiere, Bd. II, I, Hälfte (S. 533), Berlin, 1934.
4. Jonston J. B. Trans. Roy. Soc. N. Z., 68 (1), 47—48, 1938.

## ОБЗОРЫ ЧУРГИС ТВОРОВЫЕ БЕРВЕДОВЫЕ АМЕРИКАНСКИЕ

### 3. АНАЛИЗ

тбилисиских Сакхарашвили Саидзе и Григориади Николиашвили

### რეზიუმე

შესწავლილ ქანა სისტემატიკური და ექოლოგიური თვალსაზრისით ერთო-მეორისაგან დაშორებული ქვლოვანი ოევზის (კეფალი, ზღვის ენა, ზღვის ცხენი) სპინალური ნერვები. ქვლოვანი ოევზისათვის სპინალური ნერვების ყველაზე დამახასიათებელი მოწყობილობა აქვს კეფალს, რაც შეესაბამება ამ ცხოველის აქტიური პელაგიალური ცხოვრების ნირს. ზღვის ცხენის პერიფერიული ნერვების სპეციფიკური თვისებურებანი დაკავშირებულია ლოკომოციის ხასიათთან, ხოლო ზღვის ენის წყალში გადანაცვლების ფორმამ გამოიწვია მისი სპინალური წნულების რეგრესიული ცვლილებები — ფარფლისა და შესაბამისი ნერვული წნულის რედუქცია.



# ON THE MORPHOLOGY OF SPINAL NERVES OF FISH

V. S. ABASHIDZE

State Medical Institute, Tbilisi, USSR

## Summary

The spinal nerves of ecologically dissimilar bony fish, remote as well in their systematic relationships have been investigated. The structure of spinal nerves typical for bony fish has been observed in Grey mullet which corresponds to their active pelagic way of life. The hippocampus of this species reveals specific anatomical peculiarities characteristic of its way of life. The manner of moving caused regressive changes of plexus in the Sea language.

УДК 591.3

ЭМБРИОЛОГИЯ

## К ИССЛЕДОВАНИЮ ЭНДОПЕРМА И ЭНДОСПЕРМАЛЬНЫХ ГАУСТОРИЙ У БУКВИЦ

Э. Я. Кобасидзе, Л. А. Кобахидзе

Центральный ботанический сад АН ГССР, Тбилиси  
Институт ботаники АН ГССР, Тбилиси

Поступила в редакцию 30.05.1980

У представителей рода буквиц изучалось строение зародышевого мешка, процесс двойного оплодотворения, формирование эндосперма и эндоспермальных гаусториев.

Восьмиядерный зародышевый мешок имеет характерное для губоцветных строение. Оплодотворенные зародышевые мешки опознаются наличием обеих разрушенных синергид, остатками пыльцевых трубок, увеличением размеров зиготы и присутствием в ней добавочного ядрышка.

После второго деления эндосперма на противоположных концах зародышевого мешка уже имеются материнские ядра микропилярного и халазального гаусториев и (между ними) материнское ядро собственно эндосперма.

В ценоцитном микропилярном гаустории протекает четыре ядерных деления, в халазальном — одно-два.

Дифференциация гаусториев совершается путем эндополиплоидизации ядер.

Зигота перемещается из микропилярного конца зародышевого мешка в ткань клеточного эндосперма и там делится.

Известно, что зародышевые мешки семейства губоцветных характеризуются наличием эндоспермальных гаусториев. Как показали наши наблюдения [1, 2], эти структуры у представителей разных родов формируются неодинаково, тогда как в пределах рода тип формирования гаусториев является постоянным. Следовательно, наряду с другими систематическими признаками, он может порой явиться полезным для выяснения родственных связей между родами.

Нами изучалось формирование эндоспермальных гаусториев у некоторых представителей эмбриологически неизученного рода *Betoniaca* L. (*B. grandiflora* Willd., *B. osetica* Chinth., *B. abchazica* Chinth.) с момента заложения до окончательного их формирования. Для этого потребовалось также предварительное изучение строения зародышевого мешка, двойного оплодотворения и формирования эндосперма.

Зрелый зародышевый мешок буквиц формируется по *Polygonum*-типу. Он имеет удлиненную, изогнутую форму. В средней части зародышевый мешок сужен, в микропилярной и халазальной частях — расширен. Микропилярный конец зародышевого мешка представлен типичным для губоцветных яйцевым аппаратом (рис. 1). Цитоплазма яйцеклетки богата крахмальными зернами, синергиды же лишены их. В ядре яйцеклетки до оплодотворения отмечается наличие добавоч-

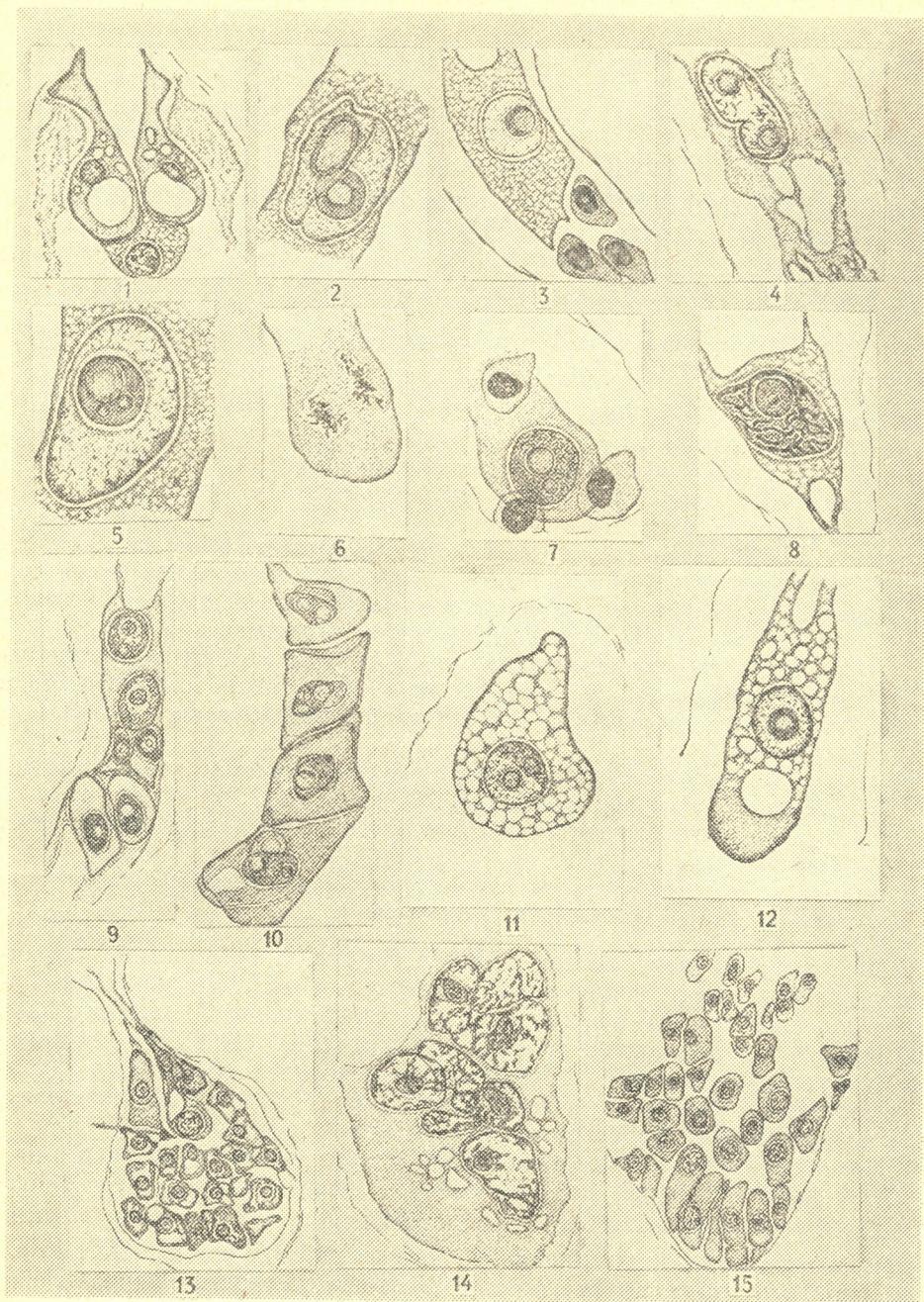
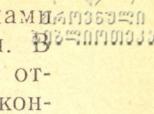


Рис. 1—15. Элементы зародышевого мешка, стадии формирования эндоспера, его гаусториев и зиготы:

1, 2, 5, 11, 14 — *Betonica grandiflora*;  
3, 6, 7, 9 — *B. osetica*;  
4, 8, 10, 13, 15 — *B. abchazica*



ного ядрышка. Центральная клетка заполнена крахмальными зернами и содержит два полярных ядра — каждое с крупным ядрышком.  только что сформированном зародышевом мешке полярные ядра отделены друг от друга. Перед оплодотворением они сближаются, контуры их становятся извилистыми, они располагаются вблизи центральной суженной части зародышевого мешка (рис. 2).

Халазальную часть зародышевого мешка занимают три антиподы, резко отличающиеся по своей структуре от остальных его элементов (рис. 3). Плазма антипод однородная, не содержит крахмальных зерен. Ядра их интенсивно красятся при окраске по Фельгену; структура ядер грубая.

В зрелый зародышевый мешок буквиц проникает свыше одной пыльцевой трубы, которые проходят через одну синергиду и разрушают ее.

В отличие от ранее изученных нами [3] представителей губоцветных, у которых одна из синергид сохраняется длительное время после оплодотворения, у буквиц разрушается и вторая синергиды.

Контакта спермия с женскими половыми ядрами нам наблюдать не удалось, однако оплодотворенные зародышевые мешки легко опознавались, благодаря наличию разрушенных синергид, остатков пыльцевой трубы, увеличению размера зиготы и присутствию в ней крупного добавочного ядрышка.

Оплодотворенные полярные ядра перемещаются в халазальную часть зародышевого мешка и, окончательно сливаясь, образуют первичное ядро эндосперма, которое делится вблизи антипод (рис. 3, 4, 5).

Первичное ядро эндосперма очень крупного размера (рис. 5). Структура его весьма нежная, ядро окрашивается по Фельгену очень бледно, контуры его трудно различимы. Оно имеет обычно два крупных ядрышка.

Первое деление эндосперма совершается в поперечном направлении и сопровождается возникновением двух линейно расположенных клеток, из них халазальная является материнской клеткой халазального гаустория, на базе же микропилярной клетки возникают микропилярный гаусторий и собственно эндосперм. Второе деление эндосперма совершается в продольном направлении, но несколько вкось (рис. 6), поэтому возникшие две клетки — материнская клетка микропилярного гаустория и материнская клетка собственно эндосперма — располагаются одна над другой и почти рядом.

В халазальной части зародышевого мешка к этому времени уже имеется одноядерный халазальный гаусторий и три сохранившиеся антиподы (рис. 7).

Последующее деление ядер совершается уже асинхронно. Материнские клетки микропилярного и халазального гаусториев задерживаются в делении. Материнская же клетка собственно эндосперма делится без промедления. Поэтому к моменту деления материнского ядра микропилярного гаустория (рис. 8) уже имеется несколько клеток эндосперма (рис. 9). Структура ядер и плазмы гаусториев заметно отличается от таковой в эндосперме (рис. 8, 9). Плазма гаусториев, по сравнению с плазмой эндоспермальных клеток, более рыхлая. Плазма микропилярного гаустория богата крахмалом. Она нежная, ячеистая. Размеры ядер микропилярного и халазального гаусториев (рис. 8, 9) намного превышают размеры первых ядер эндосперма. Однако после делений ядра микропилярного гаустория значительно уменьшаются в размере (рис. 10). Кроме того, структура гаусториальных ядер, по сравнению с ядрами эндосперма, более грубая; их ядра окрашиваются бледнее, чем ядра эндосперма. Материнское ядро микропилярного гау-

стория имеет извилистые контуры и содержит одно-два крупных ядра.

Первые деления клеток собственно эндосперма происходят в по-перечном направлении. Далее, по-видимому, направления клеточных делений становятся беспорядочными, так как клетки эндосперма расположаются уже не в определенном порядке, а заполняют всю полость зародышевого мешка. Клетки эти, многократно делясь, уменьшаются в размере по сравнению с первоначальными. Уменьшаются и их ядра. Они окрашиваются намного темнее.

Образующаяся после оплодотворения зигота долго остается в микропилярной части зародышевого мешка. Она значительно увеличивается в размере (рис. 11). Плазма клетки ячеистая, богатая крахмалом. Лишь позже зигота начинает постепенно расти по направлению к халазальной части зародышевого мешка, где помещен клеточный эндосперм (рис. 12). При этом форма зиготы меняется: клетка значительно вытягивается и становится узкой и очень удлиненной; вакуоль размещается в ее халазальной части, а в микропилярной располагается ядро; плазма вокруг ядра остается ячеистой, в остальной же части клетки она более компактна и однородна. Достигнув клеточного эндосперма, зигота делится (рис. 13).

При изучении формирования эндосперма и эндоспермальных гаусториев мы обращали внимание и на то, как их развитие согласуется с формированием зиготы и зародыша.

Установлено, что началу роста зиготы по направлению к эндосперму приблизительно соответствует 16-ядерная стадия формирования эндосперма. Антиподы к этому времени уже дегенерируют, микропилярный гаусторий — четырехъядерный. Зигота располагается в верхней расширенной части зародышевого мешка (рис. 13) и переходит в эндосперм лишь после того, как микропилярная расширенная часть зародышевого мешка заполняется начавшими дифференцировку ядрами микропилярного гаустория. В эндосперме к этому времени отмечаются асинхронные деления.

Халазальный гаусторий у буквич, аналогично представителям других родов семейства губоцветных, не обнаруживает дальнейшего развития. Деление ядра халазального гаустория, по-видимому, не всегда имеет место. Он остается либо одноядерным, либо делится лишь один раз. Присутствие двухъядерного халазального гаустория нами отмечается на стадии многоклеточного эндосперма.

Материнское ядро микропилярного гаустория вступает в профазу тогда, когда уже имеется налицо 8 клеток эндосперма. Двухъядерному микропилярному гаусторию соответствует 16-ядерная стадия развития эндосперма; четырехъядерному — 32-ядерная фаза. Ко времени пятого деления в эндосперме число ядер в микропилярном гаустории достигает восьми. После этого совершается лишь одно деление. В микропилярном гаустории нам удалось сосчитать приблизительно 12 ядер. Так как до восьмиядерной стадии в микропилярном гаустории отмечались лишь синхронные деления, наличие двенадцати ядер эндосперма может указывать на наступление асинхронных делений в четвертом, последнем, делении микропилярного гаустория. После этого гаусториальные ядра представляют собой одну группу. С этого момента в них начинается эндополиплоидизация, в результате которой ядра становятся гигантскими и в них обнаруживаются гигантские политетные хромосомы (рис. 14). Зародыш за это время достигает сердцевидной стадии.



Наличие микропилярного гаустория прослежено нами вплоть до хорошо сформированных двух семядолей в зародыше, после чего этот гаусторий дегенерирует.

Приблизительно на сердцевидной стадии зародыша, нами отмечалось, что граничащие с микропилярным гаусторием клетки и ядра эндосперма резко отличаются от остальных большими размерами и наличием густой цитоплазмы (рис. 15). Эти клетки, очевидно, служат в качестве проводниковых от микропилярного гаустория к эндосперму.

Итак, судя по имеющимся литературным данным [4], а также нашим наблюдениям [1, 2], микропилярный и халазальный гаусторий как у буквиц, так и у остальных представителей губоцветных—циеноцитный, что, возможно, является характерным для всего семейства губоцветных.

## ЛИТЕРАТУРА

- Кобахидзе Л. А. Сообщения АН ГССР, 80, 137—140, 1975.
- Кобахидзе Л. А. Изв. АН ГССР, сер. биол., 3, 5, 415—419, 1977.
- Канделаки Г. В., Кобахидзе Л. А. Мат. V Всес. симп. по эмбр. раст., «Штиинца», Кишинев, 67—68, 1971.
- Günell S. Svensk Bot. Tidskrift, 31, N. 1, 67—110, 1937.

ბარისპირას წარმომადგენლებში ენდოსპერმისა და ენდოსპერმული ჰაუსტორიულების შესრულების

ე. კობახიძე, ლ. კობახიძე

საქართველოს სსრ მეცნიერებათა აკადემიის ცენტრალური ბოტანიკური ბაღი, თბილისი  
საქართველოს სსრ მეცნიერებათა აკადემიის ბოტანიკის ინსტიტუტი, თბილისი

რეზიუმე

ბარისპირას წარმომადგენლებში შევისწავლეთ ჩანასახის პარკის აგებულება, ორმაგი განაყოფიერება, ენდოსპერმისა და ენდოსპერმული ჰაუსტორიუმების ფორმირება.

რეზიუმეთი ჩანასახის პარკი ტუხისანთა ოჯახისათვის დამახასიათებელი ტიპის მიხედვით ფორმირდება. განაყოფიერებული ჩანასახის პარკების გამოცნობა ხდება ორივე სინერგიის დეგენერირებით, მტკრის მილის ნარჩენების არსებობით, ზიგოტის ოდენობის გაზრდითა და მასში დამატებითი ბირთვაკის გაჩენით.

ენდოსპერმის მეორე დაყოფის შემდეგ ჩანასახის პარკის მიკროპილურ და ქალაბურ ბოლოებზე უკვე იწყება მიკროპილური და ქალაბური ჰაუსტორიუმების წარმოქმნა, ხოლო მათ შორის ხდება საკუთრივ ენდოსპერმის ფორმირება,

ცენტრალურ მიკროპილურ ჰაუსტორიუმში მიმდინარეობს ოთხი ბირთვული დაყოფა, ქალაბურში კი — ერთი, იშვიათად — ორი.

ჰაუსტორიუმების დიფერენცირება ბირთვების ენდოპოლიბლოიდიის გზით ხორციელდება.

ზიგოტი ინტენსიურად იზრდება და ჩანასახის პარკის მიკროპილური ნაწილიდან საკუთრივ ენდოსპერმით დაკავებულ ცენტრალურ ნაწილში გადადის. აქ ხდება მისი დაყოფა და ზრდასრული ჩანასახის ჩამოყალიბება.

STUDY OF THE ENDOSPERM AND ENDOSPERMAL HAUSTORIA IN  
*BETONICA* L.



E. J. KOBASNIDZE, L. A. KOBAKHIDZE

The Central Botanical Garden, Georgian Academy of Sciences, Tbilisi, USSR  
Institute of Botany, Georgian Academy of Sciences, Tbilisi, USSR

S u m m a r y

In the representatives of the genus *Betonica* the structure of the embryosac—double fertilization, the endosperm and endospermal haustoria formation were studied.

The eight-nuclei embryosac is characteristic for the Labiateae. The fertilized embryosacs were identified by the presence of two destroyed synergids, by the remains of pollen tubes, by the increase of zygote dimensions and the presence in it of additional nucleolus.

After the second endosperm division on the opposite ends of the embryosac there are already the mother nuclei of the micropylar and chalazal haustoria and the mother nucleus of own endosperm between them.

In the coenocytic micropylar haustoria four nucleolar divisions in the chalazal—one or two, take place.

The haustorial differentiation is accomplished by the endopolyploidisation of nuclei.

The zygote is transferred from the micropylar end of the embryosac, inculcates in the cellular endosperm and divides there.

ИЗВЕСТИЯ АКАДЕМИИ НАУК ГССР  
Серия биологическая, т. 7, № 4, 1981

УДК 611—018.52.

ЦИТОЛОГИЯ

**СОХРАННОСТЬ МЕМБРАННОЙ СТРУКТУРЫ И АДГЕЗИВНОЙ ФУНКЦИИ ТРОМБОЦИТОВ В РАСТВОРЕ NaCl В ЗАВИСИМОСТИ ОТ ВЕЛИЧИНЫ рН И ИОННОЙ СИЛЫ**

**Ф. Г. Долидзе, Л. М. Глонти, М. А. Мосидзе**

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

Исследовалась сохранность структуры и адгезивной функции тромбоцитов, находящихся в водном растворе NaCl при различных величинах pH и ионной силе. Установлены граничные значения указанных характеристик среды, при которых структура тромбоцитов сохранена удовлетворительно и не наблюдаются аномальные изменения адгезивной функции.

**ВВЕДЕНИЕ**

Общеизвестно, что многие процессы, протекающие в организме, в том числе процесс адгезии тромбоцитов (T), в значительной мере зависит от pH и ионной силы (I). Исследования степени и характера изменения процесса адгезии T, обусловленного изменением pH и I, проводятся обычно в крови, т. е. нативной среде, содержащей форменные элементы и плазму. Установлено, что pH и I влияют на адгезию, воздействуя не только непосредственно на T [7, 17], но также и на другие форменные элементы [2] и плазму [6, 18], а это, в свою очередь, может менять данный процесс как при неизменных свойствах T, так и путем их изменения [14, 15]. Поэтому не легко раскрыть истинные причины изменения адгезии T и соответственно целенаправленно скорректировать этот процесс, например провести лечебное воздействие при отклонении pH и I от их физиологического значения.

В то же время отделение T от других форменных элементов и белков плазмы и исследование процесса адгезии в искусственной среде позволит определить, насколько наблюдаемые изменения данного процесса обусловлены изменением свойств T, вызванным воздействием pH и I непосредственно на эти клетки. Для этого, однако, необходимо знать, каким образом изменение pH и I меняет искусственную окружающую среду, так как только после «вычитания» этого изменения из общей величины изменения процесса адгезии можно судить о степени воздействия pH и I непосредственно на T, находящиеся в искусственной среде.

Такое требование будет удовлетворено, если в качестве искусственной среды использовать водный раствор неорганических солей (т. е. электролит), так как теория электролитов позволяет весьма точно определить влияние pH и I на свойства этих растворов. Следовательно, исследование адгезии T, суспензированных в раствор, неорганической соли, дает возможность определить влияние pH и I непосредственно на эти клетки.

Однако, для того, чтобы результат этого исследования можно было использовать и для Т, находящихся в нативной среде (т. е. для того, чтобы изменение свойств Т в электролите под воздействием pH и I с достаточной точностью соответствовало изменению свойств Т, находящихся в крови или плазме), необходимо, чтобы Т, супензированные в раствор соли, сохраняли структуру и адгезивную функцию в рассматриваемом диапазоне изменения значений pH и I.

Именно определению сохранности мембранный структуры и адгезивной функции Т в водном растворе неорганической соли посвящена данная работа.

## МЕТОДИКА

В качестве экспериментального животного использовалась собака. Учитывая возможное влияние половых различий и возраста на функциональную активность Т, животные подбирались одного пола и примерно одинакового возраста. Кровь брали натощак в силиконированную пробирку и стабилизировали 3,8%-ным раствором цитрата Na. Адгезия Т изучалась ротационным методом Райта, усовершенствованным В. П. Балудой — вращение исследуемой жидкости (крови, плазмы или супензии Т в солевом растворе), помещенной в капилляр Пятницкого, в течение 2,5 мин при 60 об/мин. Адгезивность определя-

лась относительным показателем в процентах —  $\gamma = \frac{N_0 - N}{N_0} \cdot 100\%$ , где

No и N концентрация Т соответственно до начала и после окончания вращения.

Критерием для оценки целостности мембранны Т в первую очередь служило отсутствие агрегатов. Дело в том, что процессу агрегации Т предшествует изменение их формы, а вещества, стабилизирующие форму Т, угнетают агрегацию [19]. В то же время ингибиторы этого процесса способствуют неизменности формы [5], активаторы же, напротив, вызывают перестройки в клеточной мемbrane [5, 11]. Изменения формы Т обусловлены стимулированием контрактильной системы этих клеток, в основном за счет воздействия  $Ca^{2+}$  на контрактильные белки [12], для чего необходимо высвобождение  $Ca^{2+}$  из гранул в цитоплазму Т, определенные перестройки в мембране гранул и изменения внутренней структуры этих клеток [13]. Другими словами, изменения формы Т и перестройка во внешней клеточной мембране происходят совместно с изменениями внутриклеточной структуры. Следовательно, отсутствие агрегатов Т может служить убедительным доказательством отсутствия активных и, тем более, необратимых изменений структуры этих клеток и применяться в качестве критерия оценки целостности мембранны Т [3]. Другим важным критерием принято считать отсутствие у Т псевдоподий [16].

Таким образом, следуя вышеизложенному, можно считать, что структура Т сохранена, если отсутствуют агрегаты этих клеток и псевдоподий на их поверхности.

Величина I определялась в молярных единицах — M[NaCl]. Отделение плазмы от цельной крови и Т от плазмы проводили центрифугированием при 26 и 240 g соответственно. Величину pH регулировали с помощью буферного раствора Мак Ильвена [1]. Подсчет количества Т проводили фазово-контрастным микроскопом при 126-кратном увеличении, а за изменением формы, размера Т и образованием агрегатов наблюдали при 567-кратном увеличении.

## РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

До начала исследования влияния рН и I на структуру и адгезивную функцию Т было проведено сравнение Т, находящихся в нативной среде (плазме), и Т, отделенных от других форменных элементов и плазмы и супензированных в водный раствор NaCl, с физиологическими значениями  $\text{pH}=7,0$  (именно этой величине было равно  $\text{pH}$  цитратной плазмы) и  $I=0,145$ . Сравнение проводилось с целью определения структурно-функциональной полноценности Т, отделенных от плазмы.

Оказалось, что в растворе NaCl Т сохраняют все черты, характерные для нормального процесса адгезии (распластывание, образование псевдоподий и т. п.), причем функциональная активность этих клеток несколько увеличивается —  $\gamma$  в растворе соли в среднем на 20% больше, чем в плазме. В то же время мембранный структура, форма и размер Т остаются практически неизменными, во всяком случае в течение 10—15 мин после их помещения в раствор NaCl (рис. 1).

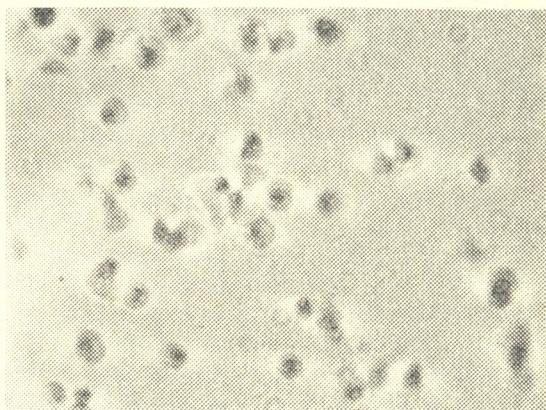


Рис. 1. Тромбоциты в растворе NaCl при  $\text{pH}=7,0$  и  $I=0,145$

Поэтому увеличение адгезивности скорее всего является следствием изменения свойств окружающей среды (замена плазмы раствором соли), а не самих Т. Это согласуется с данными ряда исследователей, которые установили, что плазма тормозит процесс адгезии из-за наличия в ней определенных веществ — ингибиторов (в частности липопротеида с молекулярным весом  $3 \cdot 10^5$ ), действие которых превосходит действие веществ-активаторов [4, 14]. Таким образом, Т, находящиеся в растворе NaCl, при физиологических значениях рН и I не проявляют аномальных изменений адгезивной функции и полностью сохраняют структуру.

Было проведено также сравнение Т в «чистом» водном растворе NaCl и при наличии буфера, показавшее, что влияние буфера на структуру и адгезивную функцию Т незначительно.

Исследование влияния рН и I на структуру и адгезивную функцию Т, находящихся в растворе NaCl, проводилось при трех значениях I — 0,1; 0,145 и 0,3. В каждом случае рН меняли в интервале от 4,0 до 8,0.

При изотоническом значении  $I=0,145$  уменьшение рН от 7,0 до 4,0 не оказывало заметного влияния на структуру и форму Т. Однако при  $\text{pH}=5,0$  большинство Т образовывали ассоциации небольшого размера (рис. 2а), которые при  $\text{pH}=4,0$  увеличивались, уплотнялись и по прошествии 10—15 мин, как правило, превращались в агрегаты (рис. 2б). Агрегация в этом случае, скорее всего, была обусловлена близким и довольно длительным контактом между самими Т (что может

привести к изменениям клеточной мембраны и секреции веществ стимуляторов агрегации), а не изменением свойств отдельных (изолированных) Т, так как клетки, не входящие в состав ассоциаций, сохраняли структуру практически неизмененной. Последнее подтверждают и данные электронной микроскопии [7], согласно которым в кислых средах у Т псевдоподии не обнаруживаются. Увеличение pH от 7,0 до 8,0 способствовало образованию псевдоподий у небольшой части Т.

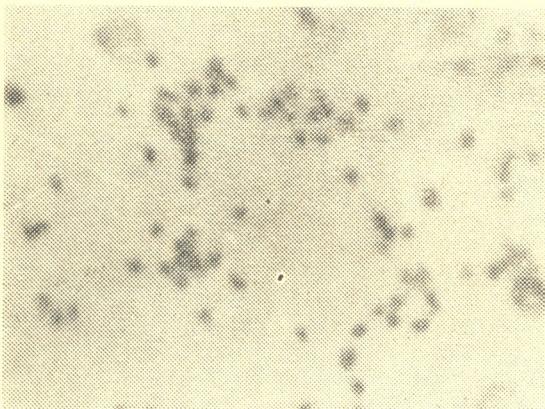
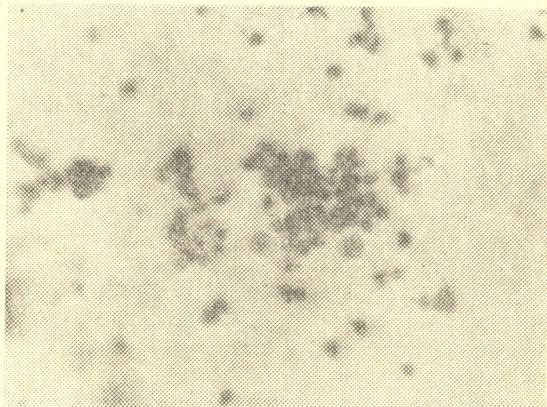


Рис. 2а. Ассоциации тромбоцитов в растворе NaCl при  $\text{pH}=5,0$  и  $I=0,145$

Что касается адгезивной функции Т, то оказалось, что уменьшение pH от 6,0 до 4,0 способствовало ее незначительному увеличению, а с дальнейшим понижением pH агрегация возрастила довольно рез-

Рис. 2б. Превращение ассоциации тромбоцитов в агрегат в растворе NaCl при  $\text{pH}=4,0$  и  $I=0,145$ . В обоих случаях препарат окрашен по Романовскому-Гимза



ко. Последнее, видимо, обусловлено не столько значительным увеличением адгезивной активности Т (на что, например, указывает отсутствие псевдоподий), сколько особенностями метода, применяемого нами для исследования адгезии.

Дело в том, что вращение исследуемой жидкости, используемое в методе Райта, может вызвать разрушение клеточной мембраны Т и выход из цитоплазмы веществ — активаторов адгезионно-агрегационной функции этих клеток. При низких pH подобные разрушения, видимо, весьма существенны, на что указывает наличие значительного количества агрегатов Т в исследуемой жидкости после ее вращения. Соответственно происходит резкое возрастание адгезивности Т. Таким

образом, при низких рН клеточная мембрана, видимо, становится менее прочной.

Наличие псевдоподий при  $\text{pH}=8,0$  должно способствовать адгезии Т, и слабое возрастание интенсивности этого процесса при увеличении рН от 7,0 до 8,0 может показаться непонятным. Здесь необходимо помнить, что с повышением рН увеличивается число отрицательно заряженных групп на поверхности Т. Учитывая также, что увеличение заряда при повышении рН от 7,0 до 7,8 заметно тормозит агрегативную функцию Т [8], можно допустить, что значительному возрастанию адгезивности при увеличении рН от 7,0 до 8,0 препятствует усиление электростатического отталкивания между поверхностью Т и стенками капилляра, в котором происходит вращение исследуемой жидкости.

При увеличении I до 0,3 (т. е. в гипертонической среде) отмечалось некоторое уменьшение размера Т, но разрушения структуры не происходило, что в принципе следовало ожидать, так как известно [9], что при повышении I до величины, в 4 раза превышающей изотоническое значение, и при ее последующем уменьшении Т обратимо меняют форму и размер. Следует, однако, отметить, что при низких рН агрегаты встречались чаще, чем в изотонической среде, а при  $\text{pH}=8,0$  возрастило количество Т с псевдоподиями.

С возрастанием I адгезия в целом увеличивалась, однако при  $\text{pH}=5,0$  разница между степенью адгезии Т, находящихся в гипертонической и изотонической среде, практически исчезла.

Наблюдаемое увеличение адгезивности может быть вызвано уменьшением заряда Т, которое должно происходить при повышении I, на что, в частности, указывает замедление электрофоретической подвижности Т, обусловленное увеличением I [17]. Не исключено также, что возрастание концентрации  $\text{Na}^+$  при увеличении I до 0,3, способно вызвать деполяризацию клеточной мембранны Т, что, как известно, активирует процесс свертывания [2] и может усилить адгезию Т.

Уменьшение I до 0,1 (гипотоническая среда) вызывало набухание Т. Структура клеток сохранялась удовлетворительно. Наблюдалась тенденция к уменьшению количества и размера агрегатов при низких рН и количества Т с псевдоподиями при  $\text{pH}=8,0$ .

Адгезивная функция была выражена слабее. При  $\text{pH} \leq 5,0$  она имела максимальное значение, практически совпадающее с величиной, наблюдавшейся в изотонической среде при том же рН.

Уменьшение адгезивной активности скорее всего происходило из-за увеличения заряда Т при понижении I. Известно, в частности, что уменьшение I способствует электрофоретической подвижности Т [10]. Что касается наблюдаемого как в гипер-, так и гипотонических средах «стирания» разницы адгезивной активности при  $\text{pH} \leq 5,0$ , то здесь имеются, по крайней мере, две причины. Во-первых, с понижением рН, особенно вблизи  $\text{pH}=4,0$ , происходит резкое уменьшение заряда Т, так как изоэлектрическая точка этих клеток лежит в интервале 3,5—4,7 [10, 17]. Потеря заряда (или его чрезмерное уменьшение) делает Т, находящиеся в различных средах, примерно одинаковыми по их электрическим свойствам, а это, в свою очередь, способствует сближению величины адгезивной активности (так как известна важная роль заряда в осуществлении адгезивной функции Т). Второй причиной могут являться наблюдаемые при низких рН значительные разрушения структуры Т, обусловленные вращением исследуемой жидкости и способные помешать Т проявить в полной мере собственные свойства и нарушить нормальный ход процесса адгезии.

Таким образом, проведенное исследование показало, что Т, отделенные от других форменных элементов и плазмы и супензирован-

ные в раствор  $\text{NaCl}$ , сохраняют мембранный структуру и нормальную адгезивную функцию при изменении рН от 5,0 до 8,0 и I — от 0,1 до 0,145. Следовательно, суспензию Т в растворе  $\text{NaCl}$  можно использовать с целью изучения влияния рН и I непосредственно на Т при изменении значения этих характеристик окружающей среды в определенном интервале.

## ЛИТЕРАТУРА

1. Калинин Ф. Л., Лобов В. П., Жидков В. А. Справочник по биохимии, «Наукова Думка», Киев, 1971, 882.
2. Кузник Б. И., Русаев В. Ф. Пробл. гематол. и перел. крови, **19**, 3, 50—55, 1974.
3. Akkerman J. W., Doucet de Bruine M. H. M., Gorter G. Thromb. a. Haemost., **39**, 1, 146—147, 1978.
4. Avnus Z., Nathan I., Dvilanski A. Israel J. med. Sci., **13**, 3, 264—271, 1977.
5. Bamberg E., Bauer O., Herrmann W. Blut, **37**, 6, 327—339, 1978.
6. Bonnardiaux J. L. Arch. Int. physiol. et biochim., **80**, 4, 749—760, 1972.
7. D'Jaldetti M., Fishman P., Bessler H. Arch. surg., **114**, 6, 707—710, 1979.
8. Grant R. A., Zucker M. B. Blood, **52**, 3, 515—523, 1978.
9. Kohn R. A., Meryman H. T. Amer. J. Physiol., **225**, 4, 770—775, 1978.
10. Larcan A., Stoltz J. E., Nikolas A. Nouv. rev. franç. hématol., **13**, 1, 119—134, 1973.
11. Lüscher E. F., Mossini P. Acta Univ. carol. Med., **53**—**54**, 69—94, 1972.
12. Lüscher E. F. Eur. J. Cancer, **16**, 1, 5—6, 1980.
13. Martin J. H., Carson F. L., Race G. L. J. Cell Biol., **60**, 3, 775—777, 1974.
14. Mohammad S. F., Hardison M. D., Chuang H. Y. K. Haemostasis, **5**, 2, 96—114, 1976.
15. Muggli R., Baumgartner H. R. In: Collagen-Platelet Interaction Proc. 1st Munich Symp., Munich, 1976, Stuttgart-N. Y., 1978, 289—298, Discussion, 299—300.
16. Shinoda B. A., Hardison M. D., Mohammad S. F. In: Proc. 34th Annu. Meet. Electron Microsc. Soc. Amer., Miami Beach, Fla. 1976, Baton Rouge Lt., 1976, 164—165.
17. Streiff F., Stoltz J. F., Larcan A. C. r. Soc. biol., **165**, 7—8, 1685—1689, 1971 (1972).
18. Vacco C., Cifaldi S., Pizzuti G. P. Boll. Soc. ital. biol. sper., **8**, suppl., 1975.
19. Wang T. Y., Hussey C. V., Garancis J. C. Amer. J. clin. Pathol., **67**, 4, 362—367, 1977.

$\text{NaCl}$ -ის ხსნარში თრომბოციტების მემბრანული სტრუქტურისა და ადჰეზიის უნარის შენარჩუნების დამოკიდებულება  $\text{pH}$ -ზე და იონური ძალის სიღილეზე

თ. დოლიძე, ლ. ლეონოვი, მ. მოსიძე

სქართველოს სსრ ჯანმრთელობის დაცვის სამინისტროს გ. მუხადის სახელობის ჰემატოლოგიისა და სისხლის გადასხმის ინსტიტუტი, თბილისი

რეზიუმე

გამოკვლეულ იქნა  $\text{NaCl}$ -ის ხსნარში ძალის სუსპენზირებული, სხვა ფორმიანი ელემენტებიდან გამოცალკევებული თრომბოციტების სტრუქტურისა და ადჰეზიის უნარის დამოკიდებულება ხსნარის  $\text{pH}$ -ზე და

იონური ძალის ოდენობაზე. თუ pH იყო 5,0—8,0-ის, ხოლო იონური ძალა 0,1—0,3 M[NaCl] ფარგლებში, იცვლებოდა თრომბოციტების ფორმა ზომა, მაგრამ უჯრედის სტრუქტურა არ ირღვევოდა. უნდა ვივარაულოთ, რომ როცა pH < 5,0, მაშინ პლაზმატური მემბრანის სიმტკიცე კლებულობს, რის გამოც თრომბოციტების სუსპენზიის შემცველი ჭურჭლის ტრიალის დროს ხდება ამ მემბრანის დაზღვევა და აგრეგატების წარმოქმნა.

რაც შეეხება თრომბოციტების ადჰეზიის უნარს, იგი სუსპენზიაში უფრო მაღალია, ვიდრე პლაზმაში. თუ გავითვალისწინებთ, რომ უჯრედის სტრუქტურა სუსპენზიაში ძირითადად უცვლელი რჩება, ადჰეზიის უნარის მატება უმთავრესად იმით უნდა აიხსნას, რომ სუსპენზიაში არ არის პლაზმის ცილები და არა იმით, თითქოს სუსპენზიაში იცვლებოდეს საკუთრივ თრომბოციტების თვისებები. გამოიყვა, რომ იონური ძალის გაზრდისას და pH-ის შემცირებისას თავს იჩენს თრომბოციტების ადჰეზიის უნარის შემცირების ტენდენცია. ეს (pH-ის შემცირებისას მაინც) გამოწვეული უნდა იყოს იმით, რომ სუსტდება განზიდვის ელექტროსტატიკური ძალა — როგორც თრომბოციტებსა და ჭურჭლის კედლებს შორის, ისე თვით თრომბოციტებს შორისაც. ამგვარი მოსაზრების სასარგებლობ მეტყველებს ავტორების მიერ აღწერილი ის ფაქტი, რომ თუ pH იზოელექტრული წერტილი მახლობლადაა, ამ დროს თრომბოციტები ურთიერთს უახლოვდებიან და წარმოიქმნება მათი ასოციაციები (და არა აგრეგატები).

## PLATELETS MEMBRANE STRUCTURE AND ADHESION FUNCTION PRESERVATION IN SODIUM CHLORIDE SOLUTION AS DEPENDENT ON pH AND IONIC STRENGTH

T. G. DOLIDZE, L. M. GLONTI, M. A. MOSIDZE

G. M. Mukhadze Institute of Haematology and Blood Transfusion, Georgian Ministry of Health, Tbilisi, USSR

### Summary

Platelets of dogs separated from blood and suspended in sodium chloride solution showed some changes in their size and form, but preserved the structure and adhesion function when pH was changed from 5.0 to 8.0 and ionic strength from 0.1 to 0.3 M (NaCl). Apparently at pH < 5.0 the cell membrane lost solidity and was damaged when the tube with suspension was rotated. This contributed to the process of aggregation.

In the same interval of changing pH and ionic strength adhesion of platelets in suspension slightly increased, as compared to plasma. With regard for practical invariability of the structure this increasing effect is interpreted largely by the absence of plasma protein, but not by changing platelets own properties. Tendency to increasing adhesion with raising of ionic strength and lowering of pH was also shown. Such an effect may be caused by weakening of the action of electrostatic repulsion of platelets and the tube walls (in which adhesion is studied), as well as of platelets themselves. This supposition is supported by the fact of formation of platelets associations at pH near to isoelectric point.

УДК 611.018.82.84:813.12

ГИСТОЛОГИЯ

## ИЗМЕНЧИВОСТЬ НЕЙРОГЛИАЛЬНЫХ ОТНОШЕНИЙ В ИЗОЛИРОВАННОЙ ПОЛОСКЕ КОРЫ ГОЛОВНОГО МОЗГА КОШКИ ПРИ ЕЕ ПРЯМОМ ЭЛЕКТРИЧЕСКОМ РАЗДРАЖЕНИИ

Н. А. Костенко

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

Поступила в редакцию 05.03.1981

Исследовались изменения нейроглиальных отношений при прямом электрическом раздражении поверхности коры изолированной полоски. Данные количественного анализа показали, что во всех слоях коры достоверно увеличилось количество олигодендроцитов. Также увеличилось количество нейронов, имеющих сателлиты, и количество сателлитов на нейронах, в основном, в нижних слоях коры. Замечено появление гантелеобразных фигур ядер нейроглии. Делается предположение, что в изолированной полоске коры увеличение количества нейроглии может идти за счет амитотического деления.

В современной литературе широко обсуждаются вопросы, связанные с изучением нейроглиальных отношений. Нейроглия принимает активное участие в различных процессах, протекающих в мозге в норме и при патологии. В реакциях мозга на воздействия различных физических факторов (звук разной интенсивности, магнитные и электромагнитные поля, ионизирующая радиация, электрический ток), а также при введении различных медикаментозных средств или химических веществ нейроглии отводится решающая роль [1, 2, 4, 6, 19].

Целью нашего исследования было выяснение нейроглиальных отношений в изолированной полоске коры поля I<sub>sp</sub> супрасильвиеевой извилины мозга кошки [24]. Изолированная полоска удобна тем, что тут в более чистом виде, без влияния других участков коры и подкорки, можно выявить изменчивость этих отношений. Основное внимание уделялось анализу количественных данных.

### МЕТОДИКА

Исследование проводили на взрослых кошках при глубоком нембуталовом наркозе (60 мг/кг). Субпialная изоляция полоски в области средней супрасильвиеевой извилины (поле I<sub>sp</sub>) делалась по методу Сентаготай [11]. Прямое электрическое раздражение коры изолированной полоски проводилось в лаборатории общей физиологии коры мозга. Расстояние между раздражающим и отводящим электродами — 1,5—2 мм, интенсивность стимула — 50 В, раздражение наносилось повторяющимися сериями по 70—100 раз с интервалом между каждым раздражением — 1 мин. При таком раздражении возникал медленный отрицательный потенциал (МОП). Длительность экспери-

мента — 8—9 ч. Мозг фиксировался в 10%-ном нейтральном формалине. Кусочки мозга заливались в парафин и резались на срезы толщиной 15 мкм. Проводилась окраска галлоцианин-хромовыми квасцами по Эйнарсону. Методика подсчета нейронов и нейроглии описана ранее [8]. Статистическая обработка и сравнительный анализ полученных данных велся методом вариационной статистики по Стьюденту.

## РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

Результаты опытов с прямым раздражением коры изолированной полоски приведены в таблицах и диаграммах. При анализе результатов сравнение велось с изолированной полоской без всяких воздействий.

Морфологическая картина в опытном материале в основном не отличалась от контроля, за исключением II слоя, где иногда видны были темные нейроны. Вероятно, непосредственно над этим участком располагался электрод. Это не мешало провести подсчет нейронов и глиальных элементов. Подсчет количества астроцитов не показал достоверного различия, за исключением IV слоя, где их число было больше, чем в контроле. Количество олигодендроцитов увеличилось достоверно ( $p>0,001$ ) во всех слоях (рис. 1). Глионейрональный индекс, выведенный для всех слоев, подтвердил эту разницу в количестве олигодендроцитов между контрольной полоской и полоской при прямом электрическом раздражении ( $p>0,001$ ). Таким образом, при прямом раздражении коры изолированной полоски в основном реагируют олигодендроциты. Обращалось внимание на распределение олигодендроцитов в различных слоях по отношению к нейронам, т. е. на то, каково соотношение свободных и сателлитных олигодендроцитов. В таблице собраны данные подсчета нейронов без сателлитов и с разным числом сателлитов послойно в контрольной полосе (А) и при прямом электрическом раздражении коры изолированной полоски (Б). Видно, что в контроле количество нейронов без сателлитов составляет большую часть нейронов как в каждом слое отдельно, так и суммарно по всем слоям (67,5% от общего количества подсчитанных нейронов). При прямом электрическом раздражении количество нейронов без сателлитов уменьшается (57,9%), соответственно увеличивается количество нейронов с сателлитами. Количество нейронов с 1 сателлитом почти не меняется, количество же нейронов с 2, 3, 4, 5 сателлитами увеличивается. Кроме того, появляются нейроны с 6, 7 сателлитами (рис. 2) и реже нейроны с 8 сателлитами, что не наблюдалось в контрольной полоске. Нейроны с большим количеством сателлитов встречаются в нижних, V—VI, слоях, и в опыте количество их увеличивается в основном в этих же слоях. Особое внимание уделялось характеру сателлитоза, в частности, нас интересовало, какие глиальные элементы находились в роли сателлитов. Выяснилось, что, если в контроле большая часть, почти половина, — это олигодендроциты, затем идут астроциты и совсем незначителен комплекс олигодендроцитов с астроцитами, то в опытном материале картина несколько иная. Количество астроцитов в роли сателлитов не меняется, комплекс олигодендроцитов с астроцитами увеличивается почти вдвое и во столько же раз увеличивается количество олигодендроцитов в роли сателлитов. Отсюда можно сделать вывод, что наиболее реактивным типом нейроглии при прямом электрическом раздражении являются олигодендроциты. Что касается свободных олигодендроцитов, то достоверной разницы между контролем и опытом не замечено.

Т а б л и ц а

Распределение по слоям нейронов с разным количеством сателлитов в полоске поля 1tsp в контроле (А) и при прямом электрическом раздражении (Б)

Слой	Количество нейронов	Без сателлитов		С 1 сателлитом		С 2 сателлитами		С 3 сателлитами		С 4 сателлитами		С 5 сателлитами		С 6 сателлитами		С 7 сателлитами	
		к-во	%	к-во	%	к-во	%	к-во	%	к-во	%	к-во	%	к-во	%	к-во	%
II	358	311	86,9	45	12,6	2	0,6	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
III	271	190	70,1	57	21,0	17	6,3	7	2,6	—	—	—	—	—	—	—	—
IV	277	174	62,8	77	27,8	22	7,9	4	1,4	—	—	—	—	—	—	—	—
V	226	119	52,6	58	25,7	30	13,3	13	5,8	4	1,8	2	0,9	—	—	—	—
VI	249	138	55,4	75	30,1	22	8,8	10	4,0	3	1,2	1	0,4	—	—	—	—
	1381	932	67,5	312	22,6	93	6,7	34	2,5	7	0,5	3	0,22	—	—	—	—
II	351	293	83,5	51	14,5	4	1,1	3	0,8	—	—	—	—	—	—	—	—
III	234	159	67,9	58	24,8	17	7,3	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
IV	259	126	48,7	83	32,0	32	12,4	14	5,4	4	1,5	—	—	—	—	—	—
V	196	58	29,6	58	29,6	43	21,9	19	9,7	11	5,6	5	2,6	1	0,5	1	0,5
VI	239	104	43,5	70	29,3	43	18,0	16	6,7	5	2,1	1	0,4	—	—	—	—
	1279	740	57,9	320	25,0	139	10,9	49	3,8	20	1,6	6	0,5	1	0,1	1	0,1

Таким образом, опыты с прямым электрическим раздражением коры изолированной полоски показали, что перестройки произошли со стороны нейроглии, в основном со стороны олигодендроцитов. Известно, что из всех видов нейроглии олигодендроциты обладают наибольшей метаболической активностью [16, 17, 19]. Самым четким из-

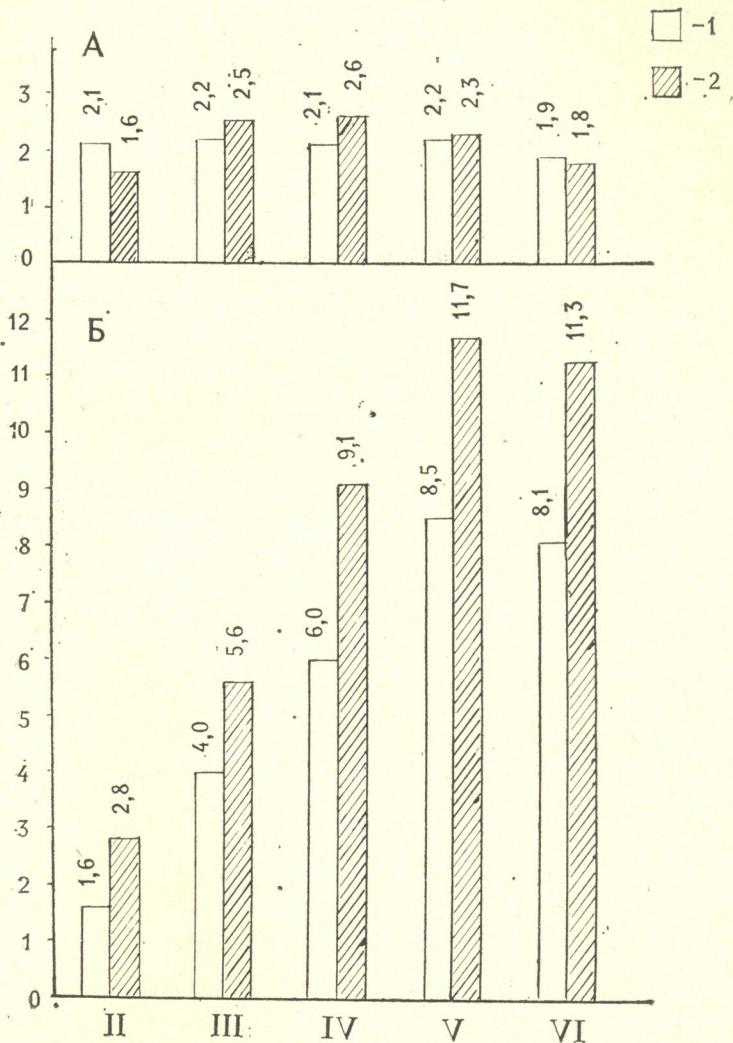


Рис. 1. Среднее число астроцитов (А) и олигодендроцитов (Б) в слоях коры изолированного лоскута поля 1tsp:1—контроль, 2 — прямое электрическое раздражение коры

менением было увеличение количества нейронов с сателлитами и увеличение числа сателлитов на нейронах. Сателлитоз рассматривается как наиболее типичная реакция глиальных клеток в ответ на повышенную активность нейронов. Увеличение количества сателлитов наблюдалось у разных животных и в различных отделах нервной системы в ответ на разные формы стимуляции [4—6, 7, 9, 10, 12, 14, 21—23, 25]. Многие исследователи пытались дать объяснение механизма сателлитоза, но пока единого мнения по этому вопросу нет. Методика ок-

раски галлоцианин-хромовыми квасцами по Эйнарсону предполагает прочное связывание красителя с нуклеиновыми кислотами, при этом окрашиваются все ядра в той или иной степени. Вероятнее всего, по мнению Ю. Гейнисмана [6], происходит перераспределение ядер глиальных клеток и перемещение их ближе к телам нейронов. Автор полагает, что эти переместившиеся клетки-сателлиты занимают у тел нейронов места, к которым ранее прилегали отростки глиальных клеток. Дополнительные сателлиты могут способствовать перераспределению ионов, осуществлять более быстрый транспорт между нейронами и капиллярами мозга.



Рис. 2. Нейроны с сателлитами в V и VI слоях коры изолированного лоскута поля Isp при прямом электрическом раздражении коры. Окраска галлоцианин-хромовыми квасцами по Эйнарсону.  $\times 800$

В наших опытах с прямым электрическим раздражением коры изолированной полоски наблюдалось и общее увеличение количества нейроглии, причем это было достоверно по всем слоям. Увеличение количества нейроглии в интактном мозге взрослых животных при различных воздействиях наблюдали многие исследователи [5, 15, 23, 27]. Одни авторы [13, 18, 26] полагают, что происходит митотическое деление клеток нейроглии, поскольку их исследования проводились с меченным  $^3\text{H}$ -тимидином, другие говорят о возможном амитотическом делении глиальных клеток [2, 22].

При исследовании на изолированной полоске некоторые авторы наблюдали увеличение количества нейроглии [3, 20]. Крнъевич отмечал, что в хронически изолированном кусочке мозга (2—5 недель и 1—2 года) происходило сжатие лоскута, частичное исчезновение крупных пирамид V слоя, за счет чего увеличивалась плотность нейроглии [20]. Причем авторы не дифференцировали астроциты и олигодендроциты. В опытах М. М. Александровской с сотрудниками [3] на изолированной полоске главное внимание уделялось астроцитам: после двух часов изоляции их количество не менялось; через 2 дня наблюдалось отчетливое увеличение, а спустя 20 дней их количество увеличивалось вдвое.

В наших же опытах с сильным прямым электрическим раздражением коры замечено статистически достоверное увеличение количе-



Рис. 3. Гантелиобразные ядра нейроглии в коре изолированного лоскута поля Isp: слева — ядра астроцитов, справа — ядра олигодендроцитов. Окраска галлоцианин-хромовыми квасцами по Эйнарсону.  $\times 800$

ства нейроглии, в частности олигодендроцитов, и менее значимое увеличение количества астроцитов. Сам процесс изоляции при сравнении с интактным мозгом не дал достоверного отличия в количестве макроглии. Приводимые на рис. 3 картины показывают замеченные в

коре опытной изолированной полоски (при прямом электрическом раздражении) гантелеобразные фигуры ядер нейроглии, как олигодендроцитов, так и астроцитов. Количество их по сравнению с контрольной полоской велико (приблизительно 8 против 1). Гантелеобразные фигуры ядер можно связать с кариотомией и предположить, что в дальнейшем кариотомия приведет к цитотомии. В нашем случае такие фигуры могут служить косвенным доказательством амитотического деления.

Подытоживая результаты нашего исследования, можно сказать, что при прямом сильном электрическом раздражении изолированной полоски коры увеличивается количество олигодендроцитов, количество нейронов с кателлитами и количество самих кателлитов на нейронах. Наблюдаемые гантелеобразные фигуры ядер нейроглии могут косвенно указывать на амитотическое деление нейроглии в наших условиях опыта.

## ЛИТЕРАТУРА

1. Александровская М. М., Гейнисман Ю. Я., Мац В. Н. Ж. невр. и псих., 65, 2, 161—167, 1965.
2. Александровская М. М., Холодов Ю. А. ДАН СССР, 170, 482—485, 1966.
3. Александровская М. М., Холодов Ю. А., Элькина Г. А. Бюлл. экспер. мед. и биол., 74, 7, 7—11, 1972.
4. Александровская М. М. В сб.: Функции нейроглии, «Мецниереба», Тбилиси, 1979, 230—235.
5. Бразовская Ф. А., Павлыгина Р. А. В сб.: Функции нейроглии, «Мецниереба», Тбилиси, 1979, 215—221.
6. Гейнисман Ю. Я. Структурные и метаболические проявления функции нейрона, «Наука», М., 1974.
7. Купарадзе М. Р., Костенко Н. А. В сб.: Гагрские беседы, «Мецниереба», Тбилиси, 1972, 6, 341—347.
8. Купарадзе М. Р., Костенко Н. А. Изв. АН ГССР, 6, 3, 211—216, 1980.
9. Павлыгина Р. А., Русинов В. С. ЖВНД, 26, I, 51—58, 1976.
10. Сванидзе И. К., Диgidимова Е. В., Мусеридзе Д. П., Брегвадзе И. А., Шерешева Н. Б. В кн.: Вопросы биохимии нервной и мышечной систем, «Мецниереба», Тбилиси, 2, 1972, 5—27.
11. Сентаготай Я. В сб.: Структура и функция нервной системы, «Медицина», М., 1962, 6—14.
12. Чолокашвили Е. С. В сб.: Современные проблемы деятельности и строения центральной нервной системы, «Мецниереба», Тбилиси, 1965, 169—172.
13. Altman I. Exp. Neurol., 16, 3, 263—278, 1966.
14. Browson R. H. J. Neuropathol. Exp. Neurol., 19, 3, 407—417, 1960.
15. Diamond M. C., Law F., Rhodes H., Lindner B., Rosenzweig M. J. Comp. Neurol., 128, 1, 117—126, 1966.
16. Friede R. J. Neurochem., 6, 3, 190—199, 1961.
17. Hamberger A., Hyden H. J. Cell Biol., 16, 3, 521—525, 1963.
18. Hommes O., Leblond C. J. Comp. Neurol., 129, 3, 269—278, 1967.
19. Hyden H., Pigozzi A. J. Neurochem., 6, 1, 57—72, 1960.
20. Krpjevic K., Reifenstein R., Silver A. Electroenceph. clin. Neurophysiol., 29, 3, 269—282, 1970.

21. K u l e n k a m p f f H. Z. Anat. Entw. gesch., **116**, 6, 304—312, 1952.
22. K u n t z A., S u l k i n N. J. Comp. Neurol., **86**, 3, 467—477, 1947.
23. M u r r a y A., M a t t e w s M. Exp. Neurol., **20**, 3, 460—468, 1968.
24. S a n i d e s S. F., H o f f m a n n J. J. Hirnforsch., **11**, 1/2, 79—104, 1969.
25. S c h w y n K., H a l l Y. Anat. Rec., **151**, 414, 1965.
26. S k o f f R., V a u g h n J. J. Comp. Neurol., **141**, 2, 153—156, 1971.
27. S j o s t r a n d J. Exp. Neurol., **30**, 1, 178—189, 1971.

კატის თავის ტვინის ქერძის იზოლირებულ ზოლში ნეიროგლიურ ურთიერთობათა ცვალებადობა ქერძის ელექტრული გაღიზების დროს

#### 6. კოსტენკო

საქართველოს სსრ მეცნიერებათა აკადემიის ი. ბერიას მუზეუმის სახელობის ფიზიოლოგიის ინსტიტუტი, თბილისი

#### რეზიუმე

კატის თავის ტვინის ქერქის იზოლირებულ ზოლში (სუპრასილვიური ხვეულის Itsp მიდამო) შესწავლილ იქნა ნეიროგლიურ ურთიერთობათა ცვალებადობა ზოლის ელექტრული გაღიზიანების დროს. ეინარსონის მეთოდით ხდებოდა 15 მკმ სისქის ანათლების შეღებვა. მასალის რაოდენობრივი ანალიზით აღმოჩნდა, რომ ქერქის ყველა შრეში სტატისტიკურად მნიშვნელოვნად იზრდებოდა ოლიგოდენდროციტებისა და სატელიტური ნეირონების რაოდენობა. ნეიროგლიური ჰანტელისებური ფორმის ბირთვების არსებობა აღმართ ამიტოზური დაყოფის მანიშნებელი უნდა იყოს.

#### VARIABILITY OF NEUROGLIAL RELATIONS DURING DIRECT ELECTRICAL STIMULATION OF AN ISOLATED SLAB OF THE CAT'S CEREBRAL CORTEX

N. A. KOSTENKO

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

#### Summary

Variability of neuroglial relations was studied during direct electrical stimulation of the cat's suprasylvian gyrus (area Itsp according to Sanides). Sections of 15 mcm thick were stained with gallo-cyanin by the method of Einarson. Quantitative evaluation of the data has revealed a statistically significant rise of the number of oligodendrocytes and neurons with satellites in all the layers. Peculiar shape of some nuclei seems to indicate to the amitotic division of neuroglia.

УДК 611.018.82.84.817.1

ЦИТОЛОГИЯ

## ИДЕНТИФИКАЦИЯ КЛЕТОК В ДИССОЦИИРОВАННЫХ КУЛЬТУРАХ МОЗЖЕЧКА

И. А. Брегвадзе, И. К. Сванидзе

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

Поступила в редакцию 20.02.1981

Культивирование диссоциированной ткани мозжечка новорожденных белых крыс в чашках Петри дало возможность идентифицировать большинство клеточных типов, характерных для мозжечка *in vivo*.

Вопрос идентификации клеток в тканевых культурах является одним из сложных, особенно при культивировании тканей, включающих клетки различных типов. Сказанное относится к эмбриональной ткани центральной нервной системы, в состав которой входят, помимо клеток нейроглии, нейроны, находящиеся на различных этапах дифференцировки.

В эксплантатах мозжечка были идентифицированы клетки Пуркинье, зернистые клетки, клетки Гольджи, зернистые, звездчатые корзинчатые и крупные нейроны [6, 7, 3, 9].

Значительно меньше клеток идентифицируется в культурах, полученных после диссоциации мозжечка. В таких культурах удается обнаружить клетки Пуркинье [1], зернистые клетки [4, 5], а также зернистые клетки и клетки Гольджи [8].

В настоящей работе представлены результаты идентификации клеток в диссоциированных культурах мозжечка эмбрионов кур в разные сроки после посева.

### МЕТОДИКА

Объектом исследования служили глиальные и нервные клетки культур, полученных путем диссоциации мозжечка куриных эмбрионов 15—18 суток инкубации. Кусочки мозжечка размельчали, промывали и диссоциировали пипетированием в среде 199. Затем полученную массу фильтровали, после чего центрифugировали в течение 7 мин при 1000г. Надосадочную жидкость отливали, а осадок промывали в среде 199, пипетировали в смеси среды 199 (40%), гидролизата лактальбумината (10%), среды Игла (10%), лошадиной сыворотки (20%), глюкозы (0,4%), куриного эмбрионального экстракта (20%). Суспензию вновь фильтровали (концентрация достигала 60 000 клеток в 1 мл). Полученную смесь в объеме 5—7 капель наносили на покровные стекла, предварительно покрытые коллагеном. Затем стекла помещались в чашки Петри (при 37°C), которые на следующий день заполнялись вышеуказанный питательной средой, обогащаемой

газовой смесью 5%  $\text{CO}_2 + 95\%$   $\text{O}_2$ . Культуры исследовали через 24 и 48 ч, 3, 5, 7, 10, 14, 16, 23 и 26 дней. Окраску производили по Нисслю, крезил-Виолетом и гематоксилину-эозином; импрегнацию — по Бодиану.

## РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

Процесс диссоциации эмбриональной нервной ткани на отдельные клетки сопряжен с частичным или полным повреждением отростков, поэтому, начиная с ранних этапов культивирования, основные изменения в структурной организации клеток оказываются связанными с регенерацией и дифференцировкой.

Наиболее характерным изменением, наблюдаемым через несколько часов после посева, является агрегация клеток в отдельные группы, которые в процессе культивирования устанавливают контакт, а затем объединяются в более крупные клеточные конгломераты.

Начало агрегации уже на ранних этапах культивирования указывает на необходимость объединения изолированных клеток в группы для восстановления их отростков и дальнейшей дифференцировки. Однако, как показывает наш опыт культивирования культур, полученных после диссоциации, для созревания нейронов и клеток нейроглии обязательно их объединение в трехмерные агрегаты. Достаточно установления межклеточных контактов с сохранением однослойности культуры.

В этих случаях новообразование отростков ведет не только к установлению простых межклеточных контактов, но и к более сложной форме клеточных взаимоотношений — к так называемой плоскостной реконструкции [1].

Эти данные показывают, что в однослойных культурах, полученных после диссоциации ткани, эмбриональные нервные и глиальные клетки продолжают дифференцироваться и, следовательно, могут быть использованы для идентификации клеточных типов.

Идентификация позволила установить следующие типы клеток в диссоциированной культуре мозжечка.

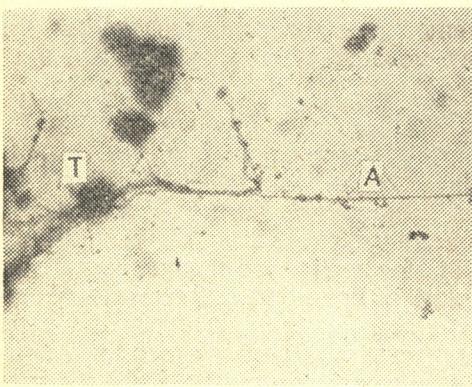


Рис. 1. Зернистая клетка: Т — тело клетки, А — аксон; 7-й день культивирования Бодиан.  $\times 400$

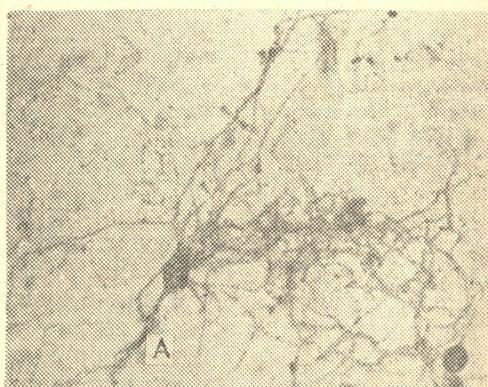


Рис. 2. Клетка Гольджи (А-аксон); 14-й день культивирования, Бодиан.  $\times 400$

Наиболее многочисленной группой нервных клеток, обнаруженной в культуре, оказались зернистые клетки с характерными короткими дендритами и длинными аксонами (рис. 1). На достаточно большое

количество таких клеток в культуре мозжечка указывает также Медицинский институт Сер [4, 5].

Среди зернистых клеток в виде единичных можно обнаружить клетки Гольджи с относительно крупным телом, хорошо развитыми многочисленными дендритами и аксоном (рис. 2).

Небольшая группа нейробластов дифференцируется в корзинчатые клетки с развитой системой дендритов, биполярно отходящих от клеточного тела (рис. 3), и в мелкие клетки со слабо развитой системой дендритов, сходные со звездчатыми клетками мозжечка (рис. 4).

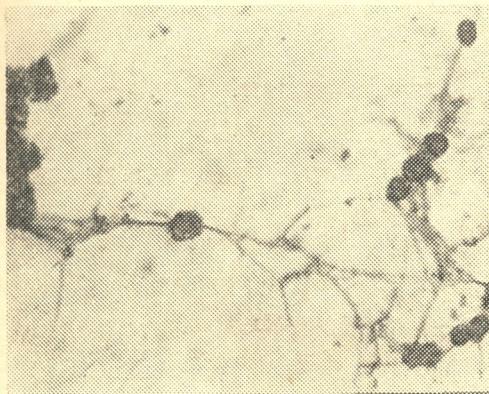


Рис. 3. Корзинчатая клетка. 14-й день культивирования, Бодиан.  $\times 400$

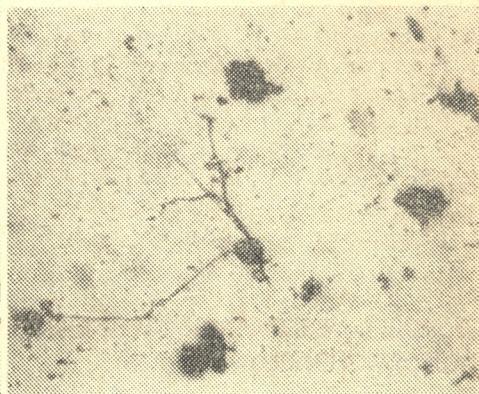


Рис. 4. Звездчатая клетка; 7-й день культивирования, Бодиан,  $\times 400$

Среди крупных нервных клеток могут быть идентифицированы пирамидообразные и мультиполлярные нейроны (рис. 5). Первые условно можно отнести к клеткам Пуркинье, хотя они и лишены типичной системы дендритов, вторые — к клеткам ядер мозжечка.

Определение клеточного состава агрегатов обнаружило, что все типы клеток принимают активное участие в создании агрегатов, од-

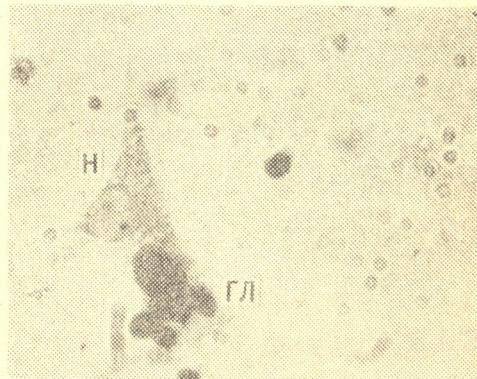


Рис. 5. Пирамидообразная нервная клетка (Н): Гл—глиальные клетки; 14 дней культивирования, Ниссль.  $\times 400$

нако образования структур, сходных с организацией мозжечка *in vivo*, не происходит [1].

Можно отметить лишь колонкообразное расположение клеток, что напоминает ранние этапы дифференцировки экранных структур вообще.

Полученные данные показывают также, что условия культивирования диссоциированной ткани мозжечка на покровных стеклах в чаш-

ках Петри с использованием обычных питательных сред оказываются благоприятными для развития нейробластов в большинстве клеточных типов, характерных для мозжечка *in vivo*.

## ЛИТЕРАТУРА

1. Власова И. Г., Лукьянова Л. Д., Уголев А. Т. Цитология, 20, 4, 405—410, 1978.
2. Сванидзе И. К., Дицимова Л. В. Цитология, 21, I, 90—93, 1979.
3. Allerand C. D. J. Comp. Neurol., 142, 2, 167—203, 1971.
4. Messer A. Brain Research, 130, 1—12, 1977.
5. Messer A., Smith M. D. Brain Research, 130, 13—23, 1977.
6. Privat A., Driant M., Mandon P. Z. Zellforsch., 146, 1, 45—67, 1973.
7. Privat A., Driant M. J. Comp. Neurol., 166, 2, 201—243, 1976.
8. Stefanelli A., Cataldi E., Gerardi L. Cell a. Tissue Res., 182, 3, 311—325, 1977.
9. Trenekner E., Sidman R. J. Cell Biol., 75, 3, 915—940, 1977.

## ნათხევის დისოცირებულ კულტურების უჯრედების იდენტიფიცირება

ი. ბრეგვაძე, ი. სვანიძე

ი. ბერიაშვილის სახელობის საქართველოს სსრ მეცნიერებათა აკადემიის ფიზიოლოგიის ან-  
სტიტუტი, თბილისი

### რეზიუმე

ახალდაბადებული თეთრი ვირთაგვას ნათხემის დისოცირებული ქსოვილის კულტივირება საფარ მინებზე, პეტრის ჭამებში, ჩვეულებრივი საკვები არების გამოყენებით, საშუალებას იძლევა ნერვული უჯრედების ძირითადი ტიპების იდენტიფიცირებისა, რაც დამახსიათებელია ნათხემისათვის *in vivo* პირობებში.

## IDENTIFICATION OF CELLS IN DISSOCIATED CULTURES OF CEREBELLUM

I. A. BREGVADZE, I. K. SVANIDZE

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

### Summary

The cultivation of dissociated cerebellar tissue of new born albino rats on the cover slip in Petri glass using nutrient media appears to be favourable for the development of neuroblasts in the most cell types characteristic of the cerebellum *in vivo*.

УДК 576.3

ЦИТОЛОГИЯ

## КЛАССИФИКАЦИЯ ЯДРЫШЕК В ГЕПАТОЦИТАХ КУРИНЫХ ЗАРОДЫШЕЙ

Ш. Р. Джинджолия, П. В. Челидзе

Кутаисский государственный педагогический институт им. А. Цулукидзе

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

Поступила в редакцию 18.02.1981

В работе приведены данные по изучению ядрышек в гепатоцитах 11-суточных куриных зародышей. Показаны различные формы ядрышка, которые условно могут быть выделены в пять основных типов: нуклеолонемные; нуклеолонемно-кольцевидные; ячеистые; ячеисто-кольцевидные; кольцевидные. Делается предположение, что наличие данных типов отражает динамику циклических превращений ядрышка на различных стадиях интерфазы.

Клетки паренхимы печени куриных зародышей характеризуются многообразием ядрышковых форм и однотипны с точки зрения структуризации хроматина. Как и в большинстве активно делящихся клеток животных, ядра гепатоцитов обнаруживают преобладание диффузной фазы хроматина и почти полное отсутствие конденсированной. Если по данному морфологическому критерию они схожи, то по структуре, форме, размерам ядрышек отдельные клетки могут резко отличаться друг от друга [2]. Учитывая достаточно высокую митотическую активность и сравнительно низкую степень дифференцировки гепатоцитов зародыша, мы скорее всего имеем дело с циклическими превращениями ядрышек, которые отражают прохождение клетками различных стадий интерфазы, отличающихся по интенсивности синтеза р-РНК. Поэтому большой интерес представляет описание всех встречающихся форм с последующим выделением определенных клеточных групп, сходных по ультраструктурной организации ядрышка. Такая группировка с учетом ядрышковой организации может в дальнейшем позволить глубже изучить динамические превращения ядрышка и его отдельных компонентов на отдельных стадиях клеточного цикла.

Среди всех ядрышковых форм, встречающихся в гепатоцитах куриного зародыша, наибольший интерес вызывают так называемые кольцевые или анулярные, а также вакуолизированные ядрышки [2]. Структуре и функции кольцевидных ядрышек посвящен целый ряд работ, проводимых как на растительных, так и на животных объектах [2, 5, 6, 7, 8, 9, 10]. Однако в литературе до сих пор нет данных, касающихся многообразия вакуолизированных форм ядрышек в гепатоцитах куриного зародыша.

## МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ

Исследовали печеночные клетки 11-суточных куриных зародышей. Фиксацию, обезвоживание и заливку в эпоксидную смолу проводили по схеме, описанной ранее [1]. Ультратонкие срезы, приготовленные на ультратоме LKB-III, окрашивали уранилацетатом, разбавленным на 50° этаноле [9], и цитратом свинца. Просматривали материал в электронных микроскопах Hitachi — IIB и Hitachi HU — 12.

## РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЙ

В печеночных клетках 11-суточных куриных зародышей можно условно выделить следующие типы ядрышек: нуклеолонемные; нуклеолонемно-кольцевидные; ячеистые или губчатые; ячеисто-кольцевидные; кольцевидные. Между этими типами существуют многочисленные промежуточные формы, которые объединяют признаки как предыдущей, так и последующей групп.

**Нуклеолонемные ядрышки.** Этот тип (рис. 1) представлен в гепатоцитах куриного зародыша особенно богато. По своему строению нуклеолонемные ядрышки не отличаются от таковых в клетках других животных. Тело ядрышка неправильной формы состоит из хорошо обозначенных нуклеолонемных тяжей, которые придают ему ретикулярную организацию. В составе таких ядрышек можно различить хорошо развитые гранулярную и электроннодenseную фибрillлярную части. Гранулярная часть развита сильнее, чем фибрillлярная, и такая композиция указывает на высокую активность ядрышка [3, 4, 5]. Помимо этих двух структурных компонентов, в них удается различить фибрillлярные центры, которые выглядят как сравнительно светлые зоны с периферическим расположением плотного фибрillлярного компонента. Все ядрышко пронизано электронносветлыми пространствами или лакунами. Последние лежат среди нуклеолонемных петель, величина и форма их непостоянны, однако в этом типе отдельные лакуны не достигают значительных размеров. Они характеризуются светлым фибрillло-гранулярным содержимым, по структуре схожим с нуклеоплазмой. Последняя часто соединяется с лакунками, которые не имеют какой-либо определенной локализации и рассеяны по всему ядрышку.

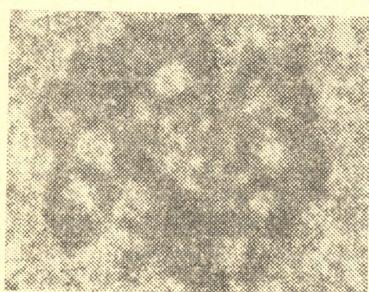


Рис. 1. Нуклеолонемное ядрышко гепатоцита 11-дневного куриного зародыша.  $\times 20\ 000$



Рис. 2. Нуклеолонемно-кольцевидное ядрышко гепатоцита 11-дневного куриного зародыша.  $\times 18\ 000$

**Нуклеолонемно-кольцевидные ядрышки.** Эта группа ядрышек по общей морфологии и соотношению фибрill и гранул не отличается от предыдущей (рис. 2). Однако в них уже обособляются центрально

расположенные более или менее обширные светлые зоны, которые придают им на срезах форму кольца. В ядрышке еще сохранено нуклеолонемное строение. Гранулы и фибрillы хорошо развиты. Кроме того, удается обнаружить и фибрillлярные центры (рис. 2). Содержимое центральной светлой зоны по структуре напоминает нуклеоплазму.

**Ячеистые ядрышки.** Начиная с этого типа (рис. 3) наблюдается уменьшение доли, приходящейся на плотный фибрillлярный компо-

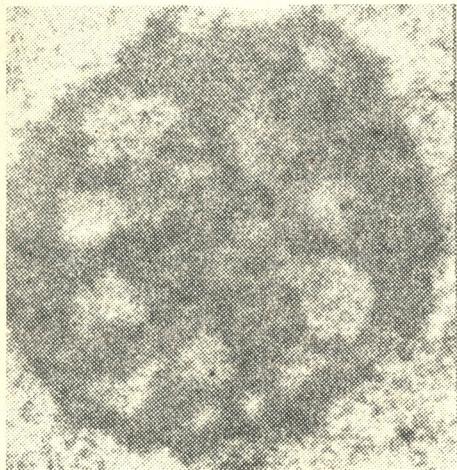


Рис. 3. Ячеистое или губчатое ядрышко гепатоцита 11-дневного куриного зародыша.  $\times 35\,000$

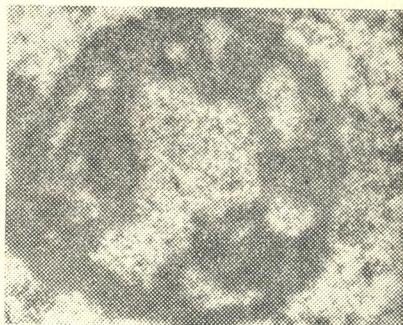
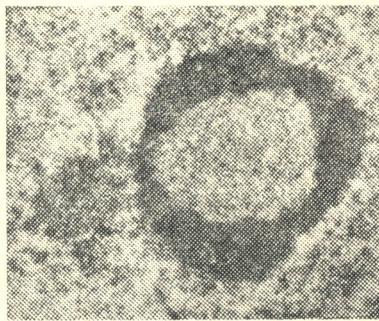


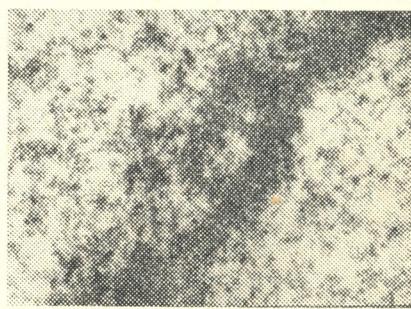
Рис. 4. Ячеисто-кольцевидное ядрышко гепатоцита 11-дневного куриного зародыша.  $\times 27\,000$

нент. Обращают на себя внимание крупные ячейки, придающие ядрышку характерный губчатый вид. Само ядрышко, как правило, округлой формы. Нуклеолонемная организация выражена нечетко. Плотный фибрillлярный компонент редуцирован и представлен небольшими сферической формы островками. Ядрышко почти целиком состоит из гранул. Фибрillлярные центры трудно идентифицировать. Однако они еще встречаются.

**Ячеисто-кольцевидные ядрышки.** Характеризуются еще большей ре-



а



б

Рис. 5. Кольцевидное ядрышко гепатоцита: а — видна центральная светлая зона.  $\times 20\,000$ ; б — участок при больших увеличениях.  $\times 50\,000$

дукцией плотного фибрillлярного компонента (рис. 4). Наряду с ячейками видна крупная центральная светлая зона с содержимым, сход-

ным по структуре с нуклеоплазмой. Нуклеолонемной организации различить уже не удается. Фибриллярные центры отсутствуют.

**Кольцевидные ядрышки.** Этот тип характеризуется сильным развитием центральной светлой зоны, которая в некоторых случаях достигает гигантских размеров (рис. 5а). РНП-компонент ядрышка в виде узкого ободка окружает электронно-светлую зону. Содержимое ее при больших увеличениях (рис. 5б) имеет четкое сходство с нуклеоплазмой и состоит из волокон диаметром 200—250 Å, которые по толщине и электронной плотности напоминают хроматиновые фибриллы. Тело ядрышка однородно и представлено, преимущественно, гранулами, а плотный фибриллярный компонент развит слабо. Фибриллярные центры трудно выявить. Внутри этого типа можно также выделить многочисленные промежуточные формы, однако все они характеризуются полным отсутствием нуклеолонем, фибриллярных центров и сильной редукцией плотного фибриллярного компонента. Показанное на рис. 5а кольцевидное ядрышко изолировано от нуклеоплазмы. Однако встречаются и такие, в которых содержимое ядрышковой светлой полости соединяется с нуклеоплазмой посредством узкого перешейка.

## ОБСУЖДЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ

Описанные нами типы ядрышек мы рассматриваем как промежуточные этапы трансформации ядрышка от нуклеолонемной формы до анулярной или же наоборот. Мы не можем пока с точностью сказать, в каком направлении и от какой крайней формы идет перестройка организации ядрышка. Однако, несомненно, что полученные в данной работе результаты свидетельствуют о циклических переходах ядрышка в интерфазе от некой начальной формы до конечной. Так, например, ясно, что кольцевидная форма ядрышка должна отражать его определенное физиологическое состояние. Наличие нуклеолонемно-кольцевидных ядрышек наводит на мысль, что нуклеолонемные ядрышки могут трансформироваться в анулярные формы.

Причины, механизм, а также физиологическое значение превращений ядрышка из нуклеолонемных в кольцевидные, или же наоборот, мало изучены. Неясны также клеточные функции ядрышковых полостей. В литературе по этому поводу существуют различные гипотезы. Интересное предположение было сделано Де Барси с соавт. [6]. Согласно им клетки, активно синтезирующие белок, должны характеризоваться наличием в ядрышках полостей («вакуолизация ядрышка»). Причем сами по себе ядрышки в данный момент могут быть не активны с точки зрения синтеза р-РНК. Они содержат в большом количестве уже синтезированные предшественники рибосом (гранулярный компонент), которые расходятся по мере синтеза белка. В результате, на месте израсходованных гранул появляются светлые зоны. Если это так, то в нашем случае исходной формой должны являться нуклеолонемные ядрышки.

Но существует и противоположное мнение. Так, ряд исследователей [7], изучая ультраструктурные превращения ядрышек на ранних этапах развития куриного зародыша обнаружили точно такие же кольцевидные формы, какие мы описываем в настоящей работе. Данная группа исследователей обозначает их как ядрышки, напоминающие рулевое колесо, и считает исходной формой. Дальнейшее превращение их в нуклеолонемные они связывают с разрывом кольцевидной, вернее, пузьревидной структуры. По их мнению, содержимое полостей («интерстициальный матрикс») развивает определенное тургорное давление на стенки ядрышка, вследствие чего последние разрушаются.

Роуз и соавт. [8] считают, что появление центральной полости ядрышка означает завершение процессов синтеза р-РНК, а образующиеся предшественники рибосом аккумулируются в вакуолях, после чего выбрасываются в цитоплазму в результате сжатия последних.

Однако следует учесть, что данные Роуза и Де Барси получены на растительных объектах. Поэтому трудно судить о том, происходят ли аналогичные превращения ядрышка и в животных клетках или же данное явление не имеет универсального характера и специфично только для растений.

Наши данные не позволяют отдать преимущество какому-либо из предположений. Очевидно, выяснение вопросов о механизмах и физиологическом смысле таких переходов требует иных экспериментальных подходов. В частности, установить последовательность этапов трансформации ядрышка в процессе его эволюции на различных фазах клеточного цикла можно, применив методы электронномикроскопической авторадиографии.

Как уже отмечалось, в гепатоцитах куриных зародышей преобладает нуклеолонемный тип ядрышек (рис. 1). Известно, что ядрышки с такой композицией являются активными [3, 4, 5].

Можно было бы думать, что постепенный переход ядрышек от нуклеолонемной организации к кольцевидной связан с падением интенсивности образования р-РНК. Известно, что последние рассматриваются как малоактивные [10]. При возобновлении активной работы ядрышковых генов могут происходить обратные переходы от кольцевидной структуры к нуклеолонемной. Однако эти предположения могут носить характер только рабочей гипотезы и требуют экспериментальных подтверждений.

## ЛИТЕРАТУРА

1. Джинджолия Ш. Р., Челидзе П. В. Изв. АН ГССР, сер. биол., 4, 3, 232—236, 1978.
2. Челидзе П. В., Туманишвили Г. Д. Цитология, 21, 2, 123—129, 1979.
3. Ченцов Ю. С., Поляков В. Ю. Ультраструктура клеточного ядра, «Hayka», М., 1974.
4. Bergnhard W. Exper. Cell Res., 6, 17—50, 1958.
5. Busch H., Smetana K. The Nucleolus, New York—London, Academic press, 1970.
6. De Barsy Th., Deltour R., Bronchart R. J. Cell Sci., 16, 95—112, 1974.
7. Raveh D., Friedlander M., Eyal-Gilladi H. Exper. Cell Res., 100, 195—203, 1976.
8. Rose R. J., Setterfield J., Fowke L. C. Exper. Cell Res., 71, 1—16, 1972.
9. Smetana K., Freireich E. J., Busch H. Exper. Cell Res., 52, 112—128, 1968.
10. Smetana K., Gyorkay F., Gyorkay P., Busch H. Exper. Cell Res., 60, 175—184, 1970.

## ქათმის ჩანასახის ჰეპატოციტების გირთვაკთა კლასიფიკაცია

შ. ჯინჯოლია, პ. ჭელიძე

ა. წულუკიძის სახელობის ქუთაისის სახელმწიფო პედაგოგიური ინსტიტუტი  
საქართველოს სსრ მეცნიერებათა აკადემიის ა. ნათიშვილის სახელობის ექსპერიმენტული  
მორფოლოგიის ინსტიტუტი, თბილისი

### რეზიუმე

აღწერილია 11 დღიანი ქათმის ჩანასახის ჰეპატოციტების ბირთვაკა შესწავლის მონაცემები. ნაჩვენებია ამ ორგანიზმის სხვა და სხვა ფორმა, რომელიც პირობითად შეიძლება ხუთ ძირითად ტიპად გამოვყოთ: 1. ნუკლეოლონემური, 2. ნუკლეოლონემურ-რგოლისებური, 3. ღრუბლისებური, 4. ღრუბლისებრ-რგოლისებური, 5. რგოლისებური. გამოთქმულია მოსაზრება, რომ ასეთი ტიპების არსებობა გამოხატავს ბირთვაკას ცკლურ გარდაქმნას ინტერფაზის სხვადასხვა სტადიაში.

## THE CLASSIFICATION OF CHICK EMBRYO HEPATOCYTES NUCLEOLI

SH. R. JINJOLIA, P. V. CHELIDZE

A. Tsulukidze Pedagogical Institute, Kutaisi,

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

### S u m m a r y

The nucleoli of hepatocytes in 11-day old chick embryo were studied. The different forms of this organoid were shown. The nucleoli of chick embryo hepatocytes may be grouped into 5 general types: 1. nucleolonemal, 2. nucleolonemal-annular, 3. spongiuous, 4. spongiuous-annular, 5. annular or ring-shaped.

It is suggested that these types represent morphological manifestation of cyclic alteration of nucleoli at different stages of interphase.

УДК 577.155.2

БИОХИМИЯ

## ВЛИЯНИЕ ОЛИГОПЕПТИДОВ НА АКТИВНОСТЬ АДЕНИЛАТЦИКЛАЗЫ И ФОСФОДИЭСТЕРАЗЫ ВО ФРАКЦИЯХ, ОБОГАЩЕННЫХ КЛЕТКАМИ ГЛИИ И СИНАПТОСОМ

Т. А. Джалиашвили

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

Поступила в редакцию 02.12.1980

Изучено влияние АКТГ<sub>1-39</sub>, АКТГ<sub>4-7</sub>, АКТГ<sub>4-10</sub>, мет-5-энкефалина, лей-5-энкефалина, тафцина и др. на активность аденилатциклазы и фосфодиэстеразы в клетках глии и синаптосомах. Установлено, что АКТГ<sub>1-39</sub>, АКТГ<sub>4-7</sub>, АКТГ<sub>4-10</sub>, лей-5-энкефалин, тафцин селективно действуют на активность аденилатциклазы и фосфодиэстеразы. Избирательное влияние олигопептидов на активность мембранных ферментов обусловлено их аминокислотной последовательностью и не зависит от их молекулярного веса.

Колossalное количество исследований посвящено выяснению механизма действия белковых нейрогормонов, однако малоисследованными остаются их фрагменты, биологически высокоактивные олигопептиды. В настоящее время установлено, что в ЦНС животных, напряду с нейрогормонами образуются олигопептиды, которые вызывают ряд морфо-физиологических изменений в самой ЦНС [1, 5, 12]. Все основные влияния белковых нейрогормонов и олигопептидов на клеточно-тканевые структуры организма сводятся к мембранным процессам, в частности к определенным рецепторам клетки, которые, со своей стороны, связаны с аденилатциклазной системой [1, 7, 9]. Реализация нейрогормональных эффектов внутри клетки осуществляется в основном с помощью циклических нуклеотидов [9, 10], поэтому исследование влияния олигопептидов на активность ферментов, регулирующих уровень циклических нуклеотидов внутри клетки, необходимо для объяснения механизма действия олигопептидов.

Настоящая работа посвящается изучению влияния некоторых физиологически активных олигопептидов на активность аденилатциклазы (АЦ) и фосфодиэстеразы (ФДЭ) в гомогенатах клеток глии и синаптосом.

\* Работа была выполнена на кафедре биохимии МГУ (зав. кафедрой академик С. Е. Северин).

Автор приносит глубокую благодарность проф. И. П. Ашмарину, к. б. н. В. А. Ткачуку и А. А. Каменскому за методическую помощь и критические замечания

## МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ

Опыты проводились на белых крысах весом 120—130 г. В исследовании были использованы: [ $^3\text{H}$ ]-3':5'-АМФ (25 Ки/ммоль) [ $^{32}\text{P}$ ]-АТФ (29 Ки/ммоль) фирмы «Amersham» (Англия), АКТГ<sub>1-39</sub>, АКТГ<sub>4-7</sub>, АКТГ<sub>4-10</sub>, фирмы «Serva» (ФРГ); остальные реагенты отечественного производства классификации х. ч. Активность АЦ и ФДЭ определяли по модифицированной прописи Ткачука и др. [4]. Клетки глии и синаптосом получали по разработанной нами прописи [2]. Кору гемисфер (8 г) протягивали через 1000 и 500 мк нейлоновые сите в 10 мМ трис-НСI буфере, рН 7,4, содержащем 0,32 М сахарозу и 1 мМ ЭДТА. Центрифугированием на 250 г в течение 10 мин осаждали клетки. Из надосадочной жидкости, центрифугированием на 16 000 г в течение 30 мин получали грубую митохондриальную фракцию, с последующим ее разделением на субклеточные фракции в градиенте сахарозы по Уайттейкеру и др. [11]. Для получения клеток глии и сомы нейронов к осадку приливали 20% фиколл (1:10) и процеживали через 500, 250, 120, 80 мк сите. Суспензию клеток вносили в середине линейного градиента фиколла, составленного по принципу Бломстрранда и Хамбергера [6], и центрифугировали на 56 000 г 1 ч. Полученные фракции промывали 0,32 М сахарозой и хранили при —20°C до измерения активности ферментов. Для определения активности АЦ и ФДЭ отбирали по 10 мкл гомогената каждой фракции (0,6—0,8 мкг белка) и вносили вместе с исследуемым олигопептидом в инкубационные пробы с конечным объемом 50 мкл. Белок определяли по Лоури [8]. Радиоактивность проб считали на счетчике SL-4221 (Франция).

## РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

Простая структура олигопептидов и возможность их химического синтеза явились благоприятными условиями для изучения их физиологических эффектов [1, 5, 12]. Однако накопившемуся множеству физиологических эффектов олигопептидов явно не хватает биохимических исследований. В связи с тем, что все характерные нейрофункции олигопептидов — трансмиттерная, коннекторная, модуляторная [1] — связаны с процессами, в которых ключевую роль играют циклические нуклеотиды, важно изучать влияние олигопептидов на активность АЦ и ФДЭ, так как эти мембранные ферменты регулируют уровень циклических нуклеотидов внутри клетки, определяя этим функциональное состояние клеток. Из трех основных нейрофункций олигопептидов в ЦНС две — трансмиттерная и коннекторная — касаются нервных окончаний, а третья, модуляторная — клеток глии. Мы изучили их влияние на активность АЦ и ФДЭ именно в этих фракциях головного мозга крыс.

В начале исследовали влияние олигопептидов на активность ФДЭ в фракциях, обогащенных клетками глии и синаптосом. По сравнению с контролем (табл. 1) нейрогормон АКТГ<sub>1-39</sub> сильно активирует ФДЭ в клетках глии (392%) и в синаптосомах (123%), тогда как его фрагменты АКТГ<sub>4-10</sub> и АКТГ<sub>4-7</sub> практически не изменяют ее активность в клетках глии, а в синаптосомах активируют гораздо слабее, чем АКТГ<sub>1-39</sub>.

Анализируя резкое отличие влияния нейрогормона на активность ФДЭ в обеих фракциях по сравнению с олигопептидами, надо предполагать, что причиной этого должно быть либо отличие молекулярных весов, либо аминокислотные последовательности. Для выяснения этих причин изучили влияние гептапептида (АКТГ<sub>4-7</sub>+трипептид), тетрапептида и трипептида на активность ФДЭ. С прибавлением молекулярного



веса АКТГ<sub>4-7</sub> появилось мощное активирующее влияние на ФДЭ в клетках глии, однако в синаптосомах гептапептид практически не оказывал влияния на ее активность. Трипептид, по сравнению с тетрапептидом, более сильно активировал ФДЭ в синаптосомах. Оба олигопептида, аналогично гептапептиду, не оказывали влияние на активность ФДЭ в клетках глии.

Таким образом, наши предположения связать активирующее влияние нейрогормона и олигопептидов с их молекулярным весом не подтвердились.

Таблица 1

Исследование влияния олигопептидов на активность фосфодиэстеразы во фракциях, обогащенных клетками глии и синаптосомами (среднее из 6 определений)\*

Исследуемые вещества	М.в.	Глия		Синаптосомы	
		M±m	Изменение, %	M±m	Изменение, %
Контроль	—	4.18±0.22	100	20.83±1.40	100
АКТГ <sub>1-39</sub>	5300	20.55±1.65	+391.6	46.48±0.90	+123.1
АКТГ <sub>4-10</sub>	962	4.68±0.45	+12.0	27.61±1.22	+32.5
АКТГ <sub>4-7</sub>	580	4.35±0.31	+4.1	25.87±1.37	+24.2
АКТГ <sub>4-7+</sub> про-глиц-про	880	16.66±0.67	+298.6	18.78±1.42	—9.9
глиц-прол-арг-прол	400	3.91±0.07	—6.5	23.56±0.82	+13.1
глиц-прол-прол	300	4.51±0.16	+7.9	28.99±1.11	+39.2
Мет-5-энкефалин	574	5.36±0.10	+28.2	26.92±0.69	+29.2
Мет-5-энкефалин-ретро	574	25.50±2.40	+510.0	32.81±0.20	+57.5
Лей-5-энкефалин	556	4.60±0.43	+10.0	27.03±0.60	+29.8
Тафцин	501	4.69±0.26	+12.0	28.65±1.93	+37.5

\*). Инкубационная среда (конечный объем 50 мкл) содержала: 20мM трис-НCl, pH 8.3, 5мM MgCl<sub>2</sub>, 10мкM 3':5'-АМФ, 0.30 мкCi [<sup>3</sup>H]-3':5'-АМФ. Инкубировали 10 мин при 37 °C; концентрация олигопептидов 5.10<sup>-6</sup>M; активность ФДЭ выражена в наномоль [<sup>3</sup>H]-АМФ в мин на мг белка.

В следующей серии опытов изучили влияние пентапептидов мет-5-энкефалина и мет-5-энкефалина-ретро, с одинаковым молекулярным весом, на активность ФДЭ. Разница между пентапептидами только в одной С-концевой аминокислоте; тирозин замещен триптофаном. Мет-5-энкефалин с одинаковой степенью активирует фермент в обеих фракциях. Замещение С-концевого тирозина на триптофан в мет-5-энкефалине дало неожиданный результат: мет-5-энкефалин-ретро гораздо сильнее активирует ФДЭ в синаптосомах, а в клетках глии дает всплеск активности фермента (510%). Надо отметить, что замена N-концевого метионина на лейцин не дает такого эффекта; лей-5-энкефалин, аналогично мет-5-энкефалину, действует на активность ФДЭ в синаптосомах, хотя в клетках глии практически не имеет эффекта. Для выяснения специфической роли С-концевого триптофана в активировании ФДЭ изучили влияние тетрапептида тафцина, у которого С-концевым является триптофан. Тафцин не оказывал существенного влияния на активность ФДЭ в клетках глии, хотя в синаптосомах активировал фермент сильнее, чем 5-энкефалины.

При анализе полученных результатов выясняется бесспорная важность последовательности аминокислот в олигопептидах при активации ФДЭ, хотя надо отметить, что остается далеко невыясненной специфичность и физиологическое значение этих эффектов, так как ФДЭ играет ключевую роль в обмене циклических нуклеотидов внутри клетки и не связана с рецепторной регуляцией их обмена. Кроме того, белковые нейрогормоны не проникают внутрь клетки.

С физиологической точки зрения более важно исследование влияния олигопептидов на активность АЦ — составной части  $\beta$ -адренергических рецепторов и, поэтому, наилучшей модели изучения механизма действия нейрогормонов на рецепторные системы клетки. Ранее нам удалось установить, что клетки глии, аналогично синаптосомам, содержат  $\beta$ -адренергические рецепторы [3], отсюда очевидна важность изучения влияния олигопептидов на активность АЦ и в клетках глии.

Для проверки возможности активирования АЦ олигопептидами исследовали влияние NaF на ее активность. NaF мощно активирует (табл. 2) АЦ в синаптосомах (136,1%) и в клетках глии (89,4%), что совпадает с нашими [2] и литературными данными [7, 9, 10]. Нейрогормон АКТГ<sub>1-39</sub> подавляет активность АЦ в синаптосомах на 44,6%, но в клетках глии практически не влияет на ее активность. Олигопептиды АКТГ<sub>4-7</sub>, АКТГ<sub>4-10</sub> и тафцин не оказывают существенных влияний на активность АЦ в обеих фракциях, однако гептапептид сильно ингибитирует активность АЦ как в синаптосомах (36%), так и в клетках глии (60%). Лей-5-энкефалин активирует АЦ в клетках

Таблица 2

Влияние олигопептидов на активность аденилатциклазы во фракциях, обогащенных клетками глии и синаптосом (среднее из 6 определений)\*

Исследуемые вещества	М. в.	Г л и я		Синаптосомы	
		M ± m	Изменение, %	M ± m	Изменение, %
Контроль	—	6.15 ± 0.27	100	12.65 ± 0.78	100
NaF	42	11.65 ± 0.16	+ 89.4	29.87 ± 0.24	+ 136.1
АКТГ <sub>1-39</sub>	5300	5.89 ± 0.37	— 4.3	7.01 ± 0.05	— 44.6
АКТГ <sub>4-10</sub>	962	6.85 ± 0.49	+ 11.4	11.27 ± 0.10	— 11.0
АКТГ <sub>4-7</sub>	580	6.49 ± 0.64	+ 5.5	12.98 ± 0.24	+ 2.6
Тафцин	501	6.74 ± 0.40	+ 9.6	12.30 ± 0.98	— 2.8
АКТГ <sub>4-7</sub> + прол-глиц-прол	880	2.49 ± 0.35	— 59.6	8.13 ± 0.29	— 35.8
Мет-5-энкефалин	574	6.25 ± 0.15	+ 1.6	10.43 ± 0.13	— 17.6
Мет-5-энкефалин-ретро	574	5.72 ± 0.18	— 7.0	12.34 ± 0.29	— 2.5
Лей-5-энкефалин	556	7.58 ± 0.14	+ 23.3	12.06 ± 0.19	— 4.7
глиц-прол-прол	300	7.80 ± 0.73	+ 26.8	12.45 ± 0.59	— 1.6
глиц-прол-арг-прол	400	8.13 ± 0.35	+ 32.2	15.53 ± 0.96	+ 22.8

\* Инкубационная среда (конечный объем 50 мкл) содержала: 50 мМ трис-HCl, pH 7,5 MgCl<sub>2</sub>, 1 мМ дитиотреитола, 20 мМ креатинфосфата, 0,2 мг/мл креатинфосфатазы, 1 мМ 3':5'-АМФ, 5 мМ теоффилина, 0,5 мкКи[<sup>32</sup>P]-АТФ; инкубировали 15 мин при 30° С; концентрация олигопептидов — 5·10<sup>-5</sup>М; активность АЦ выражена в пикомолях [<sup>32</sup>P]—3':5'-АФМ в мин на 1 мг белка

глии, но не влияет на ее активность в синаптосомах. Мет-5-энкефалин слабо подавляет активность АЦ в синаптосомах, а в клетках глии не выявляет эффекта. Тетрапептид активирует АЦ в обеих фракциях, а трипептид только в клетках глии.

Тщательный анализ полученных и литературных [7, 9, 10] данных показал, что ингибирующее влияние АКТГ<sub>1-39</sub>, АКТГ<sub>4-7+тривипептид</sub>, мет-5-энкефалина и даже отсутствие эффекта олигопептидов на активность АЦ не отражает истинной картины (так как активность ФДЭ в нервной ткани в 1000 раз выше активности АЦ [7]). В связи с тем, что некоторые олигопептиды оказались мощными активаторами ФДЭ, наши обычные предосторожности снизить активность ФДЭ вымыванием ее растворимой формы и подавлением активности (снижением рН и температуры, а также добавлением теофилина) не оказались достаточными для полного ее блокирования. Поэтому перед изучением действия олигопептидов на активность АЦ нужна щадящая частичная очистка АЦ до сохранения рецепторной чувствительности.

Суммируя полученные данные селективного влияния олигопептидов на активность АЦ и ФДЭ в клетках глии и в синаптосомах, можно (несмотря на сложность изучаемого вопроса) предположить, что избирательное их действие должно быть обусловлено либо специфичностью белков мембран клеток глии и синаптосом, либо наличием разных изоэнзимов АЦ и ФДЭ в ЦНС, а сама биологическая активность олигопептидов обусловлена их аминокислотной последовательностью и не зависит от молекулярного веса.

## ЛИТЕРАТУРА

1. Ашмарин И. П., Еропкин М. Ю., Ковалева Т. А., Рожанец В. В. Мол. биол., 12, 965—976, 1978.
2. Джалиашвили Т. А. Сообщения АН ГССР, 100, 2, 481—484, 1980.
3. Джалиашвили Т. А., Ткачук В. А. Сообщения АН ГССР, 100, 3, 697—700, 1980.
4. Ткачук В. А., Авдонин П. В., Балденков Г. Н. Биохимия, 42, 2005—2008, 1977.
5. Медведев В. И., Бахарев В. Д., Гречко А. Т., Незовибатко В. Н. Физиол. чел., 6, 5, 771—775, 1980.
6. Blomstrand C., Hamberger A. J. Neurochem., 16, 1401—1407, 1969.
7. Role of Cyclic AMP in Cell Function. Greengard P., Costa E. (eds), Raven Press, N. Y., 1970, 386.
8. Peterson G. Anal. Biochem., 100, 201—220, 1979.
9. Rall T. W., Gilman A. G. Neurosci. Res. Progr. Bull., 8, 231—323, 1970.
10. Cyclic AMP. Robinson G. A., Butcher R. W., Sutherland E. W. (eds), Acad. Press, N. Y., 1971, 531.
11. Whittaker V. P., Michaelson I. A., Kirkland K. J. J. Biochem., 90, 293—303, 1964.
12. Zetler G. Advanc. Biochem. Psychopharmacol., 18, 1—21, 1978.

ოლიგოპეპტიდების გავლენა ადენილატიკილაზისა და  
ფიფოდიკასტერაზის ამტივობაზე გლიური უჯრედებით და  
სინაპტოსომებით გამდიდრებულ ფრაქციებში

### თ. ჯალიაშვილი

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

### რეზიუმე

ვირთაგვის თავის ტვინის ქერქიდან გამოყოფილ გლიურ უჯრედებსა და  
სინაპტოსომებში შესწავლილ იქნა აკტჴ<sub>1-39</sub>, აკტჴ<sub>4-7</sub>, აკტჴ<sub>4-10</sub>, მეთიონინ და ლე-  
იცინ 5-ენკეფალინების, ტაფცინის და სხვა ოლიგოპეპტიდების გავლენა მემ-  
ბრანული ფერმენტების — ადენილატიკილაზისა და ფოსფოდიესთერაზის აქ-  
ტივობაზე.

აღმოჩნდა, რომ აკტჴ და მისი ფიზიოლოგიურად აქტიური ფრაგმენტები,  
ლეიცინ 5-ენკეფალინი და ტაფცინი, შერჩევითად მოქმედებენ ფერმენტების  
აქტივობაზე გლიურ უჯრედებში და სინაპტოსომებში. ოლიგოპეპტიდების შერ-  
ჩევითი მოქმედება ფერმენტების აქტივობაზე დამოკიდებულია მათში ამინ-  
მუავათა თანმიმდევრობაზე და არ არის დამოკიდებული მათ მოლეკულურ წო-  
ნაზე.

## EFFECTS OF OLIGOPEPTIDES ON ADENYL CYCLASE AND PHOSPHODIESTERASE ACTIVITIES IN SINAPTO SOMAL AND GLIAL CELL ENRICHED FRACTIONS

T. A. JALIASHVILI

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

### Summary

Effects of ACTH<sub>1-39</sub>, ACTH<sub>4-7</sub>, ACTH<sub>4-10</sub>, methionine and leucine 5-enkephalins, taphsin etc. on adenyl cyclase and phosphodiesterase activities of glial cells and synaptosomes (isolated from rat brain) were investigated. ACTH<sub>1-39</sub> ACTH<sub>4-7</sub> ACTH<sub>4-10</sub> leucine 5-enkephalin, taphsin selectively changed the activities of adenyl cyclase and phosphodiesterase in glial cells and in synaptosomes. Effects of oligopeptides on enzyme activities depended on amino acids sequence in them and not on their molecular weight.

УДК 577.154

БИОХИМИЯ

## ФЕРМЕНТНЫЙ ПРЕПАРАТ КИСЛОТОСТАБИЛЬНЫХ $\alpha$ - И ГЛЮКОАМИЛАЗ И ПЕРСПЕКТИВЫ ЕГО ИСПОЛЬЗОВАНИЯ

В. В. Коридзе, Р. Д. Поландова, Л. И. Гусева, Н. Н. Масликова,  
Л. Л. Квачадзе, Г. И. Квеситадзе

Институт биохимии растений АН ГССР, Тбилиси

Научно-производственное объединение хлебопекарной промышленности, Москва

Поступила в редакцию 24.04.1981

Подобраны условия выделения технического препарата кислотостабильных  $\alpha$ - и глюкоамилаз из глубинной культуры мутанта *Aspergillus niger* 147-А.

Установлены оптимальные условия использования препарата в мукиной среде; наиболее эффективно применение препарата в полуфабрикатах с повышенной кислотностью.

В последнее время в культурах некоторых представителей *Aspergillus* обнаружена кислотостабильная  $\alpha$ -амилаза. Несмотря на большой экономический эффект, получаемый при использовании «обычных» форм грибных и бактериальных амилаз, замечен повышенный интерес к кислотостабильным и термостабильным амилазам, существенно повышающим эффективность ряда технологических процессов [1].

В настоящей работе изложены приемы получения и возможность использования в хлебопекарной промышленности ферментного препарата кислотостабильных  $\alpha$ - и глюкоамилаз — амилонигрина Г10х.

### МЕТОДИКА

В качестве продуцента  $\alpha$ -и глюкоамилаз использовали мутантный штамм *A. niger* 147-А [2]. Культуру гриба выращивали глубинным способом при 30° в конических колбах емкостью 750 мл на качалке при 180 об/мин и в 30-литровых (фирмы «Marubishi») и 200-литровых (отечественного производства) ферментерах. Активность  $\alpha$ -амилазы определяли по методу Рухлядовой и Горячевой [3], глюкоамилазы — по Дальквисту [6]. Концентрирование ферментов проводили как на вакуум-ротационном (пленочном) испарителе, так и на циркуляционной вакуум-выпарной установке. Для осаждения ферментного препарата в концентрат вносили ацетат кальция (1 г на 5 л), охлаждали смесь до 4° и добавляли охлажденный до той же температуры 96 %-ный этиловый спирт (в соотношении 3:1). Через 30—40 мин осадок центрифугировали (2500 об/мин в течение 10 мин) и сушили в вакуум-эксикаторе над прокаленным  $\text{CaCl}_2$ .

В хлебопечении использовался ферментный препарат, полученный по описанной методике, с активностью глюкоамилазы до 4000 ед/г и кислотостабильной  $\alpha$ -амилазы до 500 ед/г.

Модельное тесто готовилось влажностью 42% без дрожжей из 100 г пшеничной муки 1 сорта. Ферментный препарат в растворенном виде вносился при замесе теста. Образцы теста с кислотностью от 3,0 до 6,5 термостатировались при температуре от 30 до 60°; для установления необходимого значения рН использовали ацетатный буфер. После 3 ч инкубации с ферментом во всех образцах теста анализировали содержание восстанавливающих сахаров. Количество сахаров рассчитывали в процентном содержании глюкозы на сухое вещество.

## РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

Главным и наиболее важным отличительным свойством  $\alpha$ -амилазы *A. niger* от «обычной»  $\alpha$ -амилазы плесневых грибов является значительно более высокая кислотостабильность. Как показали опыты, «обычная»  $\alpha$ -амилаза плесневых грибов при рН 2,5, 37° и 40-минутной инкубации полностью и необратимо теряет катализические свойства. Активность же кислотостабильной  $\alpha$ -амилазы *A. niger* 147-А в тех же условиях остается практически неизменной. Исходя из этого, мы условно называем эти ферменты кислотостабильной и кислотолабильной формами  $\alpha$ -амилаз. Аналогично  $\alpha$ -амилазе, глюкоамилаза мутанта *A. niger* 147-А также характеризуется повышенными кислотостабильными свойствами по сравнению с другими плесневыми глюкоамилазами. Нами было также установлено, что оптимум действия комплексного препарата  $\alpha$ - и глюкоамилаз лежит в районе 60°, в то время как  $\alpha$ -амилаза *A. oryzae* проявляет максимальную активность при 50° (на основе этого ферmenta производится применяемый в настоящее время препарат амилоризин Г10х).

Как показали проведенные нами опыты, масштабирование объемов выращивания продуцента *A. niger* 147-А до 30, а затем до 200-литровых ферментеров не меняло активности образуемых ферментов (табл. 1).

Таблица 1

Активность  $\alpha$ - и глюкоамилаз в глубинной культуре *A. niger* 147-А при выращивании в 200-литровом ферментере

Время выращивания	рН	Активность, ед/мл	
		$\alpha$ -амилазы	глюкоамилазы
0	6,0	—	—
42	3,25	0,90	8,5
54	3, 1	1,60	16,6
66	2, 8	1,79	19,8
78	2, 7	1,88	21,4
90	2, 7	1,76	23,0

На основании ряда опытов по выращиванию продуцента в ферментерах нами были установлены: во-первых, абсолютная идентичность активностей  $\alpha$ - и глюкоамилаз при выращивании в колбах на качалке и в ферментерах; во-вторых, оптимальный срок выращивания продуцента — 72—80 ч, поскольку максимальная активность  $\alpha$ -амилазы накапливается к 72—74 ч, а глюкоамилазы — к 90—96 ч.

Довольно высокие термостабильные свойства исследуемых нами

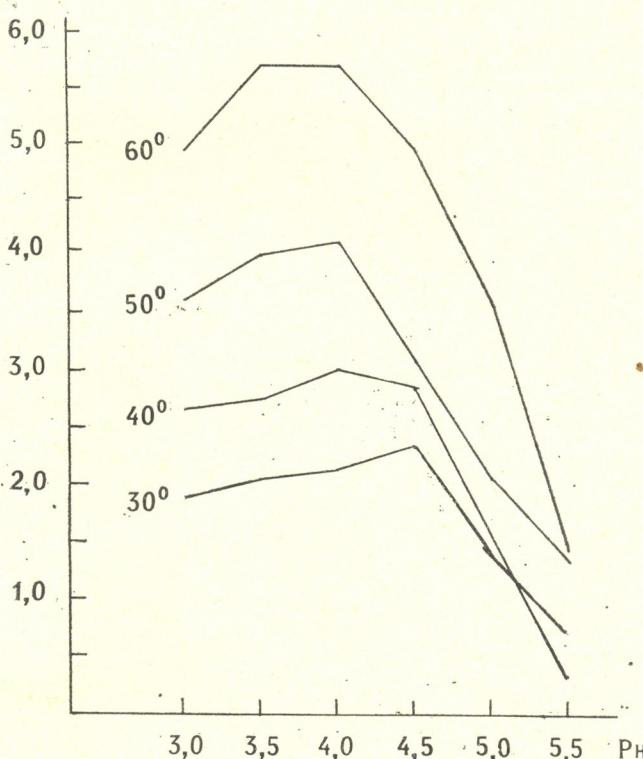
ферментов позволили удачно провести процесс их концентрирования (табл. 2), что значительно облегчает дальнейшее получение ферментного препарата.

Таким образом, в результате концентрирования удалось сохранить более 85% активности ферментов. Интересно отметить, что во всех случаях  $\alpha$ -амилаза проявляла повышенную стабильность при концентрировании. Осаждение этиловым спиртом позволило получить в виде препарата более 90% исходной активности с активностью глюкоамилазы — до 4000 ед/г, а  $\alpha$ -амилазы — 400—500 ед/г.

В модельное тесто препарат вносился в растворенном виде в разных концентрациях.

Данные по содержанию сахаров, образовавшихся в результате действия амилонигрина Г10х, приведены на рисунке.

% САХАРА



Накопление дополнительного количества сахаров в пшеничном тесте за счет ферментного препарата амилонигрина Г10х

Установлено, что максимальная активность препарата проявляется при температуре 30—40°C при pH 4,0—4,5, а при температуре выше 40°C при pH 3,5—4,0. В тесте с кислотностью 6,0 и выше активность препарата резко падает, а при pH 6,5 практически равна нулю.

В зоне оптимальной кислотности среды (pH 3,5—4,0) амилонигрин Г10х обладает высокой термостабильностью. При прогревании пшеничного теста от 30 до 60°C в присутствии ферментного препарата содержание сахаров при pH 3,0 возрастает от 0,89 до 5,70%, а при pH 4,0 — от 2,16 до 5,70%. В условиях выпечки теста при pH 5,5 и

Таблица 2

Баланс активностей  $\alpha$ - и глюкоамилаз при концентрировании фильтрата культурной жидкости *A. niger* 147-А

Способ концентрации Вакуум-ротационный испаритель	Загружено фильтрата			Степень упарки	Получено концентраты					
	объем, л	активность, ед/мл			объем	активность, ед/мл		выход, %		
		$\alpha$ -амилаза	глюкоамилаза			$\alpha$ -амилаза	глюкоамилаза			
Циркуляционная	500	750000	9000000	5	98,7	675000	7200000	90	80	
Вакуум-выпарная установка	200	300000	3600000	5	41,3	252000	2592000	84	72	

Таблица 3

Содержание моно- и дисахаридов в бездрожжевом пшеничном тесте и концентрированной молочнокислой закваске через 2,5 ч осахаривания амилонигрином Г10х

Вариант	Количество сахаров на сухое вещество, %							Сумма
	Арабиноза	Ксилоза	Фруктоза	Глюкоза	Сахароза	Мальтоза	Мальто-триоза	
Тесто (pH 5,5)								
без ферментного препарата	0,001	0,001	0,110	0,167	0,112	1,244	0,163	1,788
с ферментным препаратом	0,001	0,001	0,204	0,670	0,110	1,576	0,276	2,938
Закваска (pH 4,2)								
без ферментного препарата	0,010	0,011	0,318	0,682	0,050	0,441	0,190	1,702
с ферментным препаратом	0,082	0,010	0,279	4,615	0,015	0,360	0,200	5,561

температуре 30—33°C действие амилонигрина Г10х малоэффективно. Поэтому при его использовании в хлебопекарном производстве рационально вносить его в полуфабрикаты с повышенной кислотностью — опара, жидкие дрожжи, закваски и др.

Для подтверждения такого предположения проведено определение сбраживаемых углеводов в мучных полуфабрикатах с pH 5,5 (пшеничное тесто без дрожжей) и 4,2 (концентрированная молочнокислая закваска — полуфабрикат ускоренного способа приготовления теста [4]), подвергнутых осахариванию амилонигрином Г10х в течение 2,5 ч.

Моно- и дисахариды анализировались методом газожидкостной хроматографии в виде триметилсилильных производных [5] на приборе Цвет 3—56 (режим изотермический; температура термостата колонок для моносахаридов — 180°C, олигосахаридов — 230°C; газ-носитель азот пропускался со скоростью 40 мл в мин; колонка стеклянная, длиной 1,8 см и внутренним диаметром 8 мм). В качестве сорбента использовался хромосорб (60—80 меш), жидкой фазы — силикон-30. Концентрацию сахаров рассчитывали методом внутреннего стандарта по инозиту.

Как видно из результатов анализа данных, приведенных в табл. 3, в условиях более высокой кислотности эффективность ферментного препарата существенно повышается. В концентрированной молочно-кислой закваске за 2,5 ч ферментации накапливается значительное количество глюкозы, которая в первую очередь расходуется в процессе брожения. Использование предварительно осахаренной закваски в хлебопечении будет способствовать активации процесса брожения и, в конечном итоге, улучшению физико-химических показателей качества готовой продукции.

## ЛИТЕРАТУРА

- Квеситадзе Г. И. Селекция производителей и характеристика амилолитических ферментов грибов рода *Aspergillus*. Автореф. докт. дисс., М., 1980.
- Квеситадзе Г. И., Квачадзе Л. Л., Павленишвили М. Д., Алексидзе Т. И., Коридзе В. В. Штамм *A. niger* 147-А — производитель кислотоустойчивой  $\alpha$ -амилазы и глюкоамилазы. Авт. свид. № 659617, БИ, 16.
- Рухлядева А. П., Горячева М. Г. Ферментная и спиртовая промышленность, I, 9—12, 1960.
- Кузьминский Р. В., Патт В. А., Шербатенко В. В., Немцова З. С., Казанская Л. Н. Хлебопекарная и кондитерская промышленность, II, 25—28, 1978.
- Краснянская Т. Е., Макеев Д. М., Линке О. Э. В сб.: Новые сорбенты для хроматографии, «Наука», М., 1974, 58—62.
- Dahlgvist A. J. Biochem., 80, 547—550, 1961.

მუცაბაძე ა- და გლუკოამილაზების ფერმენტული პრეპარატი და მისი გამოყენების პერსპექტივები

3. მორიძე, რ. პოლანდოვა, 5. გუშვა, 6. მასლიძოვა, ლ. კვაჭაძე, 8. გვესიტაძე  
საქართველოს სსრ მეცნიერებათა აკადემიის მცენარეთა ბიოქიმიის ინსტიტუტი, თბილისი,  
პურის მრეწველობის სამეცნიერო საჭარმოო გაერთიანება, მოსკოვი

რეზიუმე

შერჩეულია მუცაბაძე ა- და გლუკოამილაზების გამოყოფის პირობები  
მუტანტ *A. niger* 147 A-ს სიღრმული კულტურიდან.

გარევეულ იქნა პრეპარატის გამოყენების ოპტიმალური პირობები ფქვი-  
ლის არეში. ყველაზე ეფექტური აღმოჩნდა პრეპარატის გამოყენება მაღალი  
მუავიანობის მქონე ნახევართაბრიკატებში.

## ACID STABLE $\alpha$ - AND GLUCOAMYLASE ENZYMES PREPARATION AND PERSPECTIVES OF ITS APPLICATION

V. V. KORIDZE, R. D. POLANDOVA, L. I. GUSEVA, N. N. MASLIKHOVA, L. L.  
KVACHADZE, G. I. KVESITADZE

Institute of Plant Biochemistry, Georgian Academy of Sciences, Tbilisi, USSR  
Scientific-Industrial Corporation of Bread Industry, Moscow, USSR

### S u m m a r y

Conditions for separation of acid stable  $\alpha$ - and glucoamylases preparation from mutant strain *A. niger* 147-A have been chosen.

The optimal conditions for enzyme application in flour medium have been established. Enzyme preparation could find the most effective application in raw materials with high acidity.



ИЗВЕСТИЯ АКАДЕМИИ НАУК ГССР  
Серия биологическая, т. 7, № 4, 1981

УДК 616.932:616.34-002-07

МИКРОБИОЛОГИЯ

**ИСПОЛЬЗОВАНИЕ ИНДИКАТОРНЫХ БУМАЖНЫХ СИСТЕМ В  
БАКТЕРИОЛОГИЧЕСКОЙ ДИАГНОСТИКЕ ВИБРИОНОВ И  
ЭНТЕРОБАКТЕРИЙ**

Л. И. Цинцадзе, В. Е. Курашвили, Л. К. Вепхвадзе, Н. Г. Пхаладзе,  
Д. И. Мирзашвили, З. В. Орджоникидзе, М. Ш. Кобахидзе

*Грузинская противочумная станция, Тбилиси*

*Тбилисский государственный институт усовершенствования врачей МЗ СССР*

Поступила в редакцию 22.02.1981

В работе использованы бумажные индикаторные системы (СИБ) для идентификации вибрионов. С помощью СИБ и классическим методом изучено 127 вибрионов и 66 штаммов энтеробактерий. На основании полученных данных рекомендуется использование СИБ для идентификации вибрионов (за исключением теста на маннозу). В результате сравнительного изучения биохимических свойств энтеробактерий обоснована целесообразность применения тестов на оксидазу, уреазу, глюкозу, лактозу, маннит, сахарозу, арабинозу и индол.

В последнее время уделяется особое внимание ускоренным методам идентификации бактерий, основанных на подборе небольшого числа наиболее существенных дифференцирующих тестов для определения рода.

Определение ферментативных свойств бактерий общепринятыми методами связано с приготовлением специальных дифференциально-диагностических сред, что технически довольно сложно, требует большой затраты времени (24 ч и более), сред и посуды. Зачастую ингредиенты, входящие в состав сред, дефицитны, что затрудняет их использование.

В этой связи развитие исследований в области разработки систем для ускоренной идентификации бактерий является чрезвычайно важным и перспективным направлением.

В последние годы в Советском Союзе разрабатываются новые методы ускоренного определения биохимических свойств и энзиматической активности микроорганизмов, с помощью которых идентификация микроорганизмов, занимающая при обычных бактериологических анализах 1—4 дня, может быть проведена в значительно более короткие сроки при замене дифференциально-диагностических сред различными индикаторными системами [1—4, 6].

Зарубежными коммерческими фирмами сконструированы наборы индикаторных систем для ускоренной энзимоиндикации в различной форме в виде импрегнированных реагентами дисков или полосок, пластиковых пеналов или пластинок с ячейками, содержащими

дифференцирующие субстраты, определяющие наличие специфических энзимов или конечных продуктов метаболизма. Таковыми являются системы «Enterotube», «Patho-Tec» и другие [5].

При помощи таких систем можно провести не только родовую диагностику, но и определить принадлежность к различным семействам. Точность определения в этих системах достигает 97% [7, 8]. Вместе с тем работа с реагентами этих систем технически проста, дает экономию времени, сред и посуды.

Нами использованы отечественные бумажные индикаторные системы СИБ для идентификации вибрионов (разработаны в Горьковском НИИ эпидемиологии и микробиологии МЗ РСФСР), представляющие собой диски или полоски бумаги, пропитанные соответствующими реактивами и предназначенные для дифференциации микроорганизмов рода *Vibrio* от сходных с ними бактерий и определения ферментативных групп вибрионов по Хейбергу. Набор позволяет изучить 12 признаков, ферментацию лактозы, сахарозы, маннозы, арабинозы, маннита, лизина, орнитина, аргинина, наличие ферментов оксидазы, уреазы и способность к индолообразованию.

Вышеуказанными бумажными индикаторными системами и классическим методом было изучено 127 вибрионов: 25 Эль-Тор; 1 НАГ-виброн, выделенный от человека; 98 водных вибрионов и 3 виброна, выделенные от крыс.

Для исследования сахаролитических свойств использовали как жидкые, так и твердые питательные среды. Изучение декарбоксилирования аминокислот проводили в забуференном физиологическом растворе pH 5,5—5,6.

Полученные результаты представлены в табл. 1.

Таблица 1

Результаты сравнительного изучения биохимических свойств холерных вибрионов классическим методом и набором СИБ

Тесты	Холерный виброн Эль-Тор	НАГ-виброн	Водные вибрионы	Виброна крысиные	Всего
Оксидаза	25/25	1/1	98/98	3/3	127/127
Уреаза	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0
Индол	20/25	1/1	95/98	3/3	119/127
Лактоза	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0
Глюкоза	25/25	1/1	98/98	3/3	127/127
Сахароза	25/25	1/1	98/98	3/3	127/127
Манноза	25/25	1/1	46/96	3/3	75/127
Арабиноза	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0
Маннит	25/25	1/1	98/98	3/3	127/127
Аргинин	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0
Орнитин	25/25	1/1	98/98	3/3	127/127
Лизин	25/25	1/1	98/98	3/3	127/127

Примечание: в числителе — количество положительных реакций при использовании СИБ, в знаменателе — при использовании классического метода

Таблица 2

Результаты сравнительного изучения биохимических свойств энтеробактерий классическим бактериологическим методом и набором СИБ

Тесты	Эшерихия	Сальмонелла	Цитобактер	Энтеробактер	Гафния	Протес	Всего
Оксидаза	8/8	5/5	7/7	17/17	11/11	18/18	66/66
Уреаза	8/8	5/5	7/7	17/17	11/11	18/18	66/66
Индол	8/8	5/5	7/7	17/17	11/11	18/18	66/66
Лактоза	8/8	5/5	7/7	17/17	11/11	18/18	66/66
Глюкоза	8/8	5/5	7/7	17/17	11/11	18/18	66/66
Сахароза	8/8	5/5	7/7	17/17	11/11	18/18	66/66
Арабиноза	8/8	5/5	7/7	17/17	11/11	18/18	66/66
Маннит	8/8	5/5	7/7	17/17	11/11	18/18	66/66
Аргинин	6/8	5/5	5/7	7/17	8/11	12/18	41/66
Орнитин	7/8	5/5	6/7	17/17	9/11	15/18	60/66
Лизин	8/8	5/5	7/7	12/17	8/11	14/18	54/66

Примечание: числитель — число совпадений биохимических реакций; знаменатель — число исследованных культур

Из таблицы видно, что все изученные вибрионы давали положительную оксидазную реакцию. Ни один штамм не ферментировал мочевину. Все культуры обладали способностью образовывать индол.

При изучении сахаролитических свойств в жидких и твердых питательных средах с помощью СИБ результаты разложения сахарозы совпадали с результатами классического метода исследования. Не разлагались арабиноза и лактоза, что также совпадало с классическим методом.

Необходимо отметить, что разложение глюкозы в жидких питательных средах совпадало с классическим, что касается твердых сред, то при их исследовании бумажные индикаторные системы давали неточные результаты, в частности при ферментации маннозы.

Декарбоксилазная активность аминокислот, изученная с помощью СИБ, также совпадала с результатами классического метода.

На основании данных проверки культур СИБ можно использовать для идентификации вибрионов (обращая внимание на доработку теста ферментации маннозы).

Ввиду того, что бумажные индикаторные системы разработаны не для энтеробактерий, а для вибрионов, мы не имели возможности провести полную идентификацию изученных культур семейства *Enterobacteriaceae*. Целью работы было определение надежности отдельных тестов системы СИБ в сравнении с принятыми методиками.

Испытание набора СИБ проводили параллельно с посевами в пробирках с соответствующими средами, изготовленными по общепринятой методике.

Материалом для приготовления взвесей и посевов служили 18-часовые культуры, выращенные на слабощелочном агаре. Все манипуляции с реактивными бумажками проводили по инструкции.

Классическим бактериологическим методом и методом СИБ изучено 66 эталонных и свежевыделенных культур энтеробактерий:

*Escherichia* — 8, *Salmonella* — 5, *Citobacter* — 7, *Enterobacter* — 17,  
*Hafnia* — 11, *Proteae* — 18.

Результаты проверки их биохимических свойств представлены в табл. 2.

Анализ результатов биохимических реакций, характеризующих сравнительные данные системы СИБ и соответствующих контрольных сред, показал, что совпадение получено по тестам на оксидазу, индол, уреазу, глюкозу, арабинозу, маннит, сахарозу и лактозу. Разноречивые результаты отмечаются в реакциях с аминокислотами. Так, реакция на обнаружение лизиндекарбоксилазы совпадала с классическим методом изучения реакций у эшерихий, сальмонелл и цитробактеров.

В отношении энтеробактеров, гафний и протея расхождения наблюдались в небольшом числе случаев. Недостаточно надежными оказались тесты с орнитином и, особенно, аргинином.

Таким образом, метод бумажных индикаторных систем прост, экономичен и, что самое главное, дает возможность быстрого ответа. В этом отношении он выгодно отличается от обычного, что обосновывает целесообразность его применения в практических лабораториях, особенно в условиях вспышек или эпидемий.

В связи с этим представляется необходимой разработка надежных систем, содержащих основные дифференцирующие реагенты для идентификации не только вибрионов, но и энтеробактерий.

## ЛИТЕРАТУРА

1. Адамов А. К. Принципы быстрого обнаружения патогенных микробов и вирусов, Саратов, 1964.
2. Андреева З. М., Бендин Л. Г., Петрановская М. Р., Шобухова Т. С. Лаб. дело, 9, 546—548, 1976.
3. Блинкин С. А. Методы ускоренной бактериологической диагностики кишечных инфекций, «Медицина», М., 1963.
4. Блохина И. М. Тез. докл. XVI Всес. съезда микробиологов и эпидемиологов, М., 1977.
5. Голубева И. В., Хоменко Н. А. Тез. совещ. экспертов социалистических стран по стандартизации сухих питательных сред. М., 1975.
6. Никитин В. М., Плугару С. В. Ускоренные методы эндимо-индикации микробов, Кишинев, 1979.
7. Grünberg E. Appl. Microbiol., 18, 207—208, 1969.
8. Martin L. M., Sherris L. Appl. Microbiol., 18, 3, 452—454, 1969.
9. Martin W. J. Appl. Microbiol., 22, I, 96—97, 1971.
10. Schaefer W. G. Appl. Microbiol., 16, 10, 1629—1630, 1968.

ქალაქ თბილისი ინდიკატორული სისტემების გამოყენება ვიბრიოებისა  
 და ენტერობაქტერიების გაძლიერითების  
 დიაგნოსტიკაში

ლ. ციცაძე, ვ. კურაშვილი, ლ. ვებეგაძე, ნ. ფხალაძე, დ. მირზაშვილი,  
 ჭ. ორჯონიძე, გ. კობახიძე

საქართველოს შავი ჭირის საწინააღმდეგო სადგური, თბილისი  
 სრუ ჯანმრთელობის დაცვის სამინისტროს ექიმთა დახელოვნების  
 თბილისის სახელმწიფო ინსტიტუტი

რეზიუმე

ვიბრიონების იდენტიფიკაციისათვის განკუთვნილი ქალალდის ინდიკატორული სისტემების საშუალებით და კლასიკური ენზიმონინდიკაციის მეთოდებით შესწავლილ იქნა 127 ვიბრიონისა და ენტერობაქტერიების ოჯახის 66 კულტურა.

მიღებული მონაცემების მიხედვით, ქალალდის ინდიკატორული სისტემები შეიძლება გამოყენებულ იქნას ვიბრიონების იდენტიფიკაციისათვის. გამონაკლისს წარმოადგენს მანოზას ტესტი.

ქალალდის ინდიკატორული სისტემების ზოგიერთი ტესტი (ოქსიდაზა, ურეაზა, გლუკოზა, ლაქტოზა, მანიტი, სახაროზა, არაბინოზა და ინდოლი) შეიძლება გამოვიყენოთ ენტერობაქტერიების ბაქტერიოლოგიური დიაგნოსტიკის დროს.

## USE OF PAPER INDICATOR SYSTEMS IN THE BACTERIOLOGICAL DIAGNOSIS OF VIBRIO AND ENTEROBACTERIA

L. I. TSINTSADZE, V. E. KURASHVILI, L. K. VEPKHVADZE, N. G. PKHALADZE,  
 D. I. MIRZASHVILI, Z. V. ORJONIKIDZE, M. SH. KOBAKHIDZE

The Georgian Antiplaque Station and the Chair of Microbiology of the Tbilisi State Institute for Advanced Medical Training, USSR Ministry of Health, Tbilisi

### Summary

The paper indicator systems (PIS) for identification of Vibrio have been used. By means of PIS and the classical method 127 Vibrio and 66 strains of enterobacteria have been studied. On the basis of the obtained data the use of the paper indicator systems can be recommended for identification of Vibrio with the exception of the test for mannose. As a result of the comparative study of biochemical properties of enterobacteria by means of the PIS and the classical method the tests for oxidase, urease, glucose, mannite, saccharose, arabinose and indole have proved to be valid.

УДК 616.124.1

КРАТКИЕ СООБЩЕНИЯ

## К ВОПРОСУ ИЗУЧЕНИЯ НЕКОТОРЫХ МЕХАНИЗМОВ ДЕЙСТВИЯ МЕТАМИЗИЛА И ОКТОКЛОТЕПИНА

А. И. Гогелия

Научно-исследовательский институт психиатрии им. М. М. Асатиани  
МЗ ГССР, Тбилиси

Тбилисский государственный медицинский институт, ЦНИЛ

Поступила в редакцию 20.02.1981

В связи с применением различных успокаивающих средств, действующих на ЦНС, в литературе появился ряд новых терминов, характеризующих фармакологические и терапевтические особенности препаратов. Так, широкое распространение получили нейролептические, психолептические вещества, транквилизаторы, антидепрессанты и т. д. Подобное разграничение действия веществ на функции центральной и вегетативной нервной системы является более конкретным и направленным и указывает на особенности действия того или иного препарата. Транквилизаторы по химическому строению разграничиваются на несколько групп: производные бензодиазепина, карбаматы пропандиола, производные дифенилметана. Существуют также транквилизаторы других химических групп [7].

Метамизил и октоклотепин относятся к группе производных дифенилметана. По фармакологическим свойствам оба препарата являются центральными холинолитиками, блокирующими периферические и центральные холинолитические системы.

Целью работы является изучение некоторых сторон механизма действия метамизила и октоклотепина на форменные элементы белой крови больных галлюцинаторно-паранойдной формой шизофрении в хроническом периоде заболевания.

Материал представлен 25 случаями заболевания мужчин и женщин в возрасте 35—45 лет. Кровь бралась из пальца натощак; на предметные стекла делались мазки. Взятие крови проводилось до введения препаратов (октоклотепин, метамизил), а также через 30 мин, 1 и 5 ч после их введения. Дозы препарата разовые и по интенсивности соответствуют получению выраженного клинического эффекта [1—7]. Мазки крови изучались с помощью светового или люминесцентного микроскопа.

Исследование материала показало, что после введения препаратов вес и площадь ядер нейтрофилов и лимфоцитов значительно возрастают (особенно спустя час от начала введения). Далее, через 5 ч, ядра форменных элементов продолжают оставаться по величине значительно большими, чем первоначально. Цитоплазма претерпевает следующее изменение: изменен индекс Гертвига (ядерно-плазменное отношение — ЯПО). Указанный факт касается действия как метами-

зила, так и октоклотепина. Наблюдается изменение обмена ДНК и РНК, полимеризация ДНК, полисахаридов, липидов, белков, а также щелочной и кислой фосфатазы.

При изучении веса и площади ядер и цитоплазмы, а также индекса Гертвига наше внимание привлекли данные, связанные с Фельген-положительной реакцией полового хроматина (тельца Барра). Изучение материала показало, что, если до введения препаратов число тельц Барра небольшое и приближается к данным, полученным на контрольном материале, то после введения препаратов число их начинает резко возрастать. На тельцах появляется ворсинчатость. До введения метамизила число Х хромосом составляет в среднем 25, через 30 мин после введения — 32, через 1 ч — 46, через 5 ч — 30. Аналогичная картина отмечалась и при изучении октоклотепина. Тельца Барра при действии октоклотепина несколько крупнее. Особенно крупные тельца наблюдаются через час с момента введения препарата. На донорском материале Х-хроматин мельче, чем у больных шизофренией.

Рост количества тельц Барра приводит к увеличению площади ядер, что определенным образом связано с изменением конденсации хроматина. Одновременно, изменение размера ядра, в частности его увеличение, связано с изменением содержания кислого белка. Исследования показали, что именно кислые белки играют важную роль в регуляции активности гена, преимущественно реактивируя те участки генома, которые могли бы быть репрессированы гистоном [2]. Полученные данные представляют интерес в связи с общей проблемой, связанной с взаимоотношением между ядром и цитоплазмой, в частности с переносом информации из ядра в цитоплазму и обратно.

Тельца Барра содержат глюкозо-6-фосфат, имеющий прямое отношение к пентозофосфатному (гексозомонофосфатному или фосфоглюконатному циклу и циклу Эмден-Мейергофа) пути обмена. Именно этот путь способствует усилению энергетических возможностей ядра. Он «выгоден» клетке тогда, когда необходимо ускорить утилизацию глюкозы; фосфорилирующие механизмы при этом «заняты». Гексозомонофосфатный путь способствует усилению огликолитических процессов, протекающих в клетке. Он необходим для усиления в клетке различных синтетических процессов, в частности синтеза жирных кислот и стероидов (важных составных частей цитомембран). С его помощью в клетки поставляются пентозы, необходимые при синтезе нуклеиновых кислот.

Как метамизил, так и октоклотепин являются активными антидепрессантами ядра, переводящими клетку на пентозофосфатный путь обмена. Усиливая синтез макроэргов, а также жирных кислот и стероидов (основных составных частей цитомембран), метамизил и октоклотепин одновременно действуют статически на лизосомы, способствуют укреплению мембранны лизосом, что, в свою очередь, тормозит выход наружу гидролитических ферментов, вызывающих деструкцию клеточных мембран, ДНК хромосом и др. Оба препарата способствуют увеличению агранулярной плазматической сети, появлению свободного гликогена и усилению защитной деятельности клетки.

## ЛИТЕРАТУРА

1. Страйкова К. В. Ж. невр. и псих., 59, 4, 402—405, 1959.
2. Трауготт Н. Н., Баланов Л. Я. Ж. невр. и псих., 58, 5, 585—586, 1958.
3. Машковский М. Д. Ж. невр. и псих., 56, 2, 81—83, 1956.
4. Машковский М. Д. Химия и медицина. Аминазин, IX, Медгиз, М., 1959.

5. Машковский М. Д., Либерман С. С., Полежаева А. И. Кол. и химиотер., XIII, 1, 14—16, 1955.
6. Сихарулиձ Ա. Ի. Материалы по экспериментальному исс ледованию токсичности плазмы крови при шизофрении, Автореф. докт. дисс., Тбилиси, 1961.
7. Машковский М. Д. Лекарственные препараты, «Медицина», М., 1978.
8. Георгийев Г. П. Цитология ферментов, «Наука», М., 1971.

ესტაბილურის და ოქტოკლოთეპინის მოქმედების ზოგიერთი  
მემკანიზმის შესწავლა

#### ა. გოგელია

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

თბილისის სახელმწიფო სამედიცინო ინსტიტუტის სამეცნიერო-კვლევითი ლაბორატორია

#### რეზიუმე

მეტამიზილი და ოქტოკლოთეპინი ბირთვის აქტიური ანტიდეპრესანტებია, რომელთა ზეგავლენით ხდება უჯრედთა ნივთიერებათა ცვლის პენტოზოფოსფატური გზით წარმართვა. მაკროერგების სინთეზი ძლიერდება. ორივე მედიკამენტი განაპირობებს აგრანულარული პლაზმური ბადის გაფართოებას და თავისუფალი გლიკოგენის გამოვლინებას.

#### THE STUDY OF SOME MECHANISMS OF THE ACTION OF METAMYZILE AND OCTOCLOTEPINE

A. I. GOGELIA

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

#### Summary

Both metamyzile and octoclotepine appear to be antidepressants of the nucleus, bringing a cell to a pentozolophatic way of metabolism. The synthesis of macroergs increases. Both drugs contribute to the increase of agranular plasmatic reticulum and to the detection of a free glycogen.

УДК 577.15.02

КРАТКИЕ СООБЩЕНИЯ

**ВЛИЯНИЕ ЯДЕРНОГО ЭКСТРАКТА, ОБРАБОТАННОГО  
ТЕПЛОМ И РНКазой, НА ОКИСЛИТЕЛЬНОЕ  
ФОСФОРИЛИРОВАНИЕ МИТОХОНДРИЙ ПЕЧЕНИ КРЫСЫ  
IN VITRO**

**Е. Л. Демурия**

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

Поступила в редакцию 22.01.1981

Ранее нами в полярографических исследованиях было показано, что экстракт ядер печени крыс, приготовленный на 0,14 М NaCl, при добавлении к митохондриям печени крысы в присутствии АДФ вызывает ингибирование скорости потребления кислорода и уменьшение скорости фосфорилирования при повторной добавке АДФ [3, 4].

Известно, что солерастворимая ядерная фракция содержит глубуллярные белки так называемого «ядерного сока» и РНК [1]. В состав ядерного сока входят рибонуклеопротеидные гранулы двух типов — высокополимерные и низкополимерные [2]. Кроме того, показано, что ядерный экстракт на поликариламидном геле дает 11 белковых полос [8].

Как показано в работах о влиянии ядерного экстракта на хроматин [6, 7], ядерный фактор, способствующий разрушению ДНК хроматина ДНКазами, является термолабильным. Обработка при 55°C, а также обработка трипсином и РНКазой инактивировала ядерный фактор. Из этого следует, что свойства данного фактора зависят и от РНК и от белкового компонента.

В свете этих данных нас заинтересовал вопрос: какой компонент ядерного экстракта ответствен за ингибирование дыхания и фосфорилирование митохондрий?

Ядерный экстракт получали путем экстрагирования ядер печени крысы в 0,14 М NaCl. Митохондрии выделяли дифференциальным центрифугированием в 0,3 М сахарозе с 0,001 М ЭДТА. Дыхание митохондрий регистрировали на полярографе фирмы «Radelkis» типа ОН 101/1 (Венгрия), с применением платинового вращающегося электрода. В полярографическую ячейку, содержащую инкубационную среду (см. примечание к таблице), к митохондриям в состоянии 3 (в присутствии АДФ) добавляли 0,2 мл ядерного экстракта (что соответствовало 0,3—0,5 мг белка на мг белка митохондрий). К контрольным пробам добавляли 0,14 М NaCl в том же объеме. После перехода дыхания митохондрий в состояние 4 (исчерпание АДФ) производилась повторная добавка 400 мкМ АДФ. В качестве субстрата дыхания использовался сукцинат [3—5].

В настоящей работе нами производилась тепловая обработка ядерного экстракта при 55°C в течение 5 мин, после чего экстракт центрифугировали при 800 g. В опытах использовали надосадочную

Таблица

Влияние обработанного теплом и РНКазой ядерного экстракта на окислительное фосфорилирование в митохондриях печени крысы *in vitro*

О пыт	Скорость дыхания в состоянии 3 в <i>мк атомах О/мин/мг</i>			Скорость фосфорилирования в <i>мк молях АДФ/мин/мг</i>			АДФ/О		
	0,14 M NaCl	нативный экстракт	опыт	0,14 M NaCl	нативный экстракт	опыт	0,14 M NaCl	нативный экстракт	опыт
Экстракт, обработанный при 55°C	163±11	124±9 P<0,05	161±5	194±17	151±7 P≈0,05	184±6	1,29±0,06	1,24±0,08	1,14±0,05 P≈0,1
Экстракт, обработанный РНКазой	202±11	174±5 P<0,05	173±6 P<0,05	188±6	139±6 P<0,01	129±8 P<0,01	1,00±0,04	0,97±0,06	0,91±0,01 P<0,1

Примечание: — 0,075 M KCl, 0,15 M сахароза, 5 mM фосфатного буфера и 2,5 *мМ* MgCl<sub>2</sub> (конечные концентрации).

Величина р во всех случаях приводится для разности с контролем (0,14 M NaCl)

фракцию, содержащую РНК-овый компонент. В осадок выпадали термолабильные белки.

В следующей группе экспериментов ядерный экстракт обрабатывался РНКазой из поджелудочной железы крупного рогатого скота. На 1 мл экстракта мы добавляли 10 гамм РНКазы и ставили на 15 мин в водянную баню при 37°C. После этого очищенным щелочным бентонитом — аскангелем удаляли РНКазу [9]. Обработанный таким образом экстракт центрифугировали и в опытах использовали надосадочную жидкость, содержащую белковый компонент.

Результаты воздействия обработанного теплом и РНКазой экстракта на окислительное фосфорилирование митохондрий представлены в таблице. Из полученных данных видно, что температурная обработка инактивирует ингибирующую способность ядерного экстракта. В этом случае ответная реакция митохондрий не отличается от контрольных величин. Обработанный РНКазой экстракт действует подобно нативному — ингибирует скорость дыхания в состоянии 3 при второй добавке АДФ и уменьшает скорость фосфорилирования. Показатель АДФ/О не меняется.

Из вышеприведенных данных следует, что ядерный фактор, ингибирующий дыхание и фосфорилирование митохондрий печени крысы, представляет собой термолабильный белок. В отличие от ядерного фактора, действующего на хроматин, он не является комплексом РНК и белков. По-видимому, в ядерном экстракте может быть несколько ядерных факторов, отличающихся друг от друга по физико-химическим свойствам.

## ЛИТЕРАТУРА

- Буш Г. Гистоны и другие ядерные белки, «Мир», М., 1967.
- Георгиев Г. П., Самиарина О. П. Биохимия, 26, 3, 454—461, 1961.
- Демуря Е. Л. Изв. АН ГССР, сер. биол., 2, 5, 464—468, 1976.
- Демуря Е. Л., Козлова Н. В. Сообщения АН ГССР, 91, 2, 461—464, 1978.
- Демуря Е. Л. Сообщения АН ГССР, 92, 3, 705—708, 1978.
- Джандиери К. М., Туманишвили Г. Д. В сб.: Вопросы биофизики и теоретической биологии, Изд-во ТГУ, Тбилиси, 139, 1971, 45—55.
- Джандиери К. М., Туманишвили Г. Д., Дзиидзигури Д. В., Авалишвили Н. Г., Мгвделадзе Н. Д. ДАН СССР, 211, 2, 474—477, 1973.
- Джандиери К. М. Мат. конф. по экспер. и теорет. биол. и мед., «Мецниереба», Тбилиси, 1975, 13.
- Джохадзе Д. Н. Сообщения АН ГССР, 42, 3, 621—626, 1966.

სითბოთი და რნმ-აზით დაუშავებული ბირთვული ექსტრაქტის  
გავლენა ვირთავებს დვიძლის მიტოჟონდრიებზე ზანგვით  
ფოსფორილირებაზე *in vitro*

## ე. დემურა

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

## რეზიუმე

შესწავლით იქნა სითბოთი და რნმ-აზით დამუშავებული ბირთვული ექსტრაქტის გავლენა ვირთავებს დვიძლის მიტოჟონდრიებზე. გამოირკვა, რომ 55°-ით დამუშავებული ექსტრაქტი უანგვით ფოსფორილირებაზე გავლენას არ



ახდენს. რნმ-აზით დამუშავებული ექსტრაქტი, ნატივური ექსტრაქტის მნიშვნელობა  
სად, აიშვიათებს სუნთქვას და ამცირებს ფოსფორილირების სიჩქარეს. გა-  
მოთქმულია მოსაზრება, რომ ბირთვული ფაქტორი ოქრომოლაბილური, ცილო-  
ვანი ბუნებისაა.

## INFLUENCE OF TREATED BY HEAT AND RNA-ase NUCLEAR EXTRACT ON OXIDATIVE PHOSPHORYLATION IN RAT LIVER MITOCHONDRIA IN VITRO

E. L. DEMURIA

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

### Summary

It is shown that 55°C treated extract does not influence oxidative phosphorylation. RNAase treated extract, as native extract, inhibits oxygen consumption and decreases phosphorylation velocity. The thermolabile nature of nuclear factor is suggested.

УДК 577.15.042

КРАТКИЕ СООБЩЕНИЯ

## ВЛИЯНИЕ ЭНДОНУКЛЕАЗЫ НА ПОЛИ(АДФ-РИБОЗА) ПОЛИМЕРАЗНУЮ АКТИВНОСТЬ ЯДЕР МОЗГА КРЫС

Т. М. Заалишвили

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

Поступила в редакцию 16.04.1981

В 1975 году Миллером было показано, что в ядрах клеток HeLa при внесении в реакционную среду эндонуклеазы увеличивается поли-(АДФ-рибоза) полимеразная активность [7]. Изучая АДФ-рибозилирование в ядрах мозга крыс, мы выявили, что поли(АДФ-рибоза) полимеразная активность в интактных ядрах ниже, чем в разрушенных (табл. 1). Одной из причин этого явления может быть фрагментация ДНК при гомогенизации ядерного препарата. В работе исследовалось влияние панкреатической дезоксирибонуклеазы I на ядерную поли-(АДФ-рибоза) полимеразную активность.

### МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ

Ядра выделили методом Шово [4]. Раствор для гомогенизации мозговой ткани содержал 3 mM MgCl<sub>2</sub>. Белок определяли методом Лоури [6]; поли(АДФ-рибоза) полимеразную активность — при 30°C в среде, содержащей 50 mM Трис-HCl, pH 8,0, 5 mM MgCl<sub>2</sub>, 1 mM β-меркаптоэтанола, 0,5 нмоль С<sub>14</sub>НАД и различные концентрации панкреатической ДНКазы [1]. Конечный объем реакционной среды равнялся 0,2 мл. Время инкубации проб составляло 10 мин. Включенную в кислотонерастворимый материал радиоактивность регистрировали сцинтилляционным счетчиком SL—30 (intertechnique).

### РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

В табл. 2 представлено влияние панкреатической ДНКазы I (удельная активность 2000 ед/мг белка) на поли(АДФ-рибоза) полимеразную активность. Видно, что мизерная концентрация ДНКазы (0,05 мкг) стимулирует поли(АДФ-рибоза) полимеразную активность (на 40%). Последующее увеличение концентрации ДНКазы постепенно снижает активирование, а при концентрации 50 мкг поли(АДФ-рибоза) полимеразная активность становится ниже, чем в контрольной пробе, не содержащей нуклеазы. Поскольку ДНК является необходимым компонентом для поли(АДФ-рибоза) полимеразной реакции [2], уменьшение полимеразной активности с увеличением концентрации нуклеазы можно объяснить фрагментацией ДНК.

Таблица 1

Поли (АДФ-рибоза) полимеразная активность интактных и разрушенных ядер\*

Я д р а	Количество белка, мкг	Включение $^{14}\text{C}$ НАД имп/мин $\times 10^{-3}$
Интактные	100	4,4
Разрушенные	75	10,6

\* Для стабилизации ядер, полученных методом Шово [4], к пробам добавляли  $\text{MgCl}_2$  (0,5 мМ). Ядра разрушали по ранее описанной методике [2]. Поли (АДФ-рибоза) полимеразную активность определяли в среде, содержащей 0,47 нм $^{14}\text{C}$  НАД; реакцию проводили при 25°C.

Таблица 2

Влияние панкреатической ДНКазы I на ядерную поли (АДФ-рибоза) полимеразную активность

Концентрация ДНКазы I, мкг	Включение $^{14}\text{C}$ НАД (имп/мин $\times 10^{-3}$ )	
	без ЭГТА	ЭГТА (2 мМ)
—	12,4	12,1
0,05	17,4	12,1
0,1	16,6	12,4
0,5	15,9	—
1	15,6	12,2
2	—	12,3
5	13,9	—
10	13,1	—
25	10,3	—
50	8,5	16,4

Известно [5], что ионы кальция активируют панкреатическую ДНКазу I. Из табл. 2 видно, что в присутствии этиленгликоль-бис-(2-амино-этил) тетрауксусной кислоты (ЭГТА), которая селективно связывает ионы кальция поли(АДФ-рибоза) полимеразная активность увеличивается только при высокой концентрации ДНКазы.

В нашем случае связывание эндогенно присутствующих ионов кальция, видимо, уменьшает активность ДНКазы, что отражается на ее эффекте. Этот факт, а также то, что мизерная концентрация ДНКазы (0,05 мкг) увеличивает полимеразную активность, указывает на то, что причиной влияния нуклеазы на поли(АДФ-рибоза) полимеразную активность является фрагментация ДНК.

Как известно, ДНКаза I разрушает фосфодиэфирные связи, образуя 3'-гидроксильные концы в молекуле ДНК, которые необходимы для репликации [3]. Однако при внесении в ядра микроядерной нуклеазы (данные не представлены), которая образует 5'-гидроксильные концы, мы получили тот же результат, что и с ДНКазой I. Все это говорит о возможном участии АДФ-рибозилирования в репарации ДНК.

## ЛИТЕРАТУРА

1. Заалишвили Т. М., Маргиани Д. О., Тамазян А. С. Изв. АН ГССР, сер. биол., 6, 2, 141, 1980.
2. Заалишвили Т. М., Маргиани Д. О., Тамазян А. С. Сообщения АН ГССР, 97, 1, 441—445, 1980.
3. Burgoyne L. A., Wagar M. A., Atkinson M. R. Biochem. Biophys. Res. Commun., 39, 254, 1970.
4. Chauveau F., Moule Y., Rouiller Ch. Exp. Cell Res., 11, 317, 1956.
5. Douvas A. S., Analyt. Biochem., 90, 107, 1978.
6. Lowry O. H., Rosenrough N. T., Farr A. L., Randall R. I. J. Biol. Chem., 193, 265, 1951.
7. Miller E. G. Biochim. Biophys. Acta, 395, 191, 1975.

ენდონუკლეაზის გავლენა ვირტაგვას ტვინის ბირთვების  
პოლი (ადფ-რიბოზა) პოლიმერაზულ აქტივობაზე

### თ. ზაალიშვილი

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

### რეზიუმე

ნაჩვენებია, რომ ვირთაგვას თავის ტვინის ბირთვებში დნმ-ის ფრაგმენტა-  
ცია პანკრეასულ დნმ-აზა 1-ით და მიკროკოული დნმ-აზით იწვევს პოლი  
(ადფ-რიბოზა) პოლიმერაზული აქტივობის ცვლილებას. გამოთქმულია მოსაზ-  
რება დნმ-ის რეპარაციაში პოლი (ადფ-რიბოზა) პოლიმერაზის შესაძლო მო-  
ნაწილეობის შესახებ.

### THE INFLUENCE OF ENDONUCLEASE ON POLY (ADP-RIBOSE) POLYMERASE ACTIVITY OF RAT BRAIN NUCLEI

T. M. ZAALISHVILI

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

### Summary

It has been shown that in reaction medium in the presence of scanty concentration (0,05 mkg) of pancreatic DNase, which forms at destruction of DNA 3'-hydroxyl ends, poly (ADP-ribose) polymerase activity in rat brain nuclei is increased. With the increase of nuclease concentration the effect of activation is reduced. Similar events are observed at the addition of micrococcal nuclease into reaction medium, which by destroying DNA forms 5'-hydroxyl ends. Poly (ADP-ribose) polymerase activity change at DNA fragmentation suggests the participation of ADP-ribosylation in DNA reparation.

Технический редактор Ц. В. Бенашвили  
Корректор Э. Е. Кобахидзе

Сдано в набор 4.06.1981; Подписано к печати 31.08.1981; Формат бумаги  
 $70 \times 108^1/16$ ; Бумага № 1; Высокая печать; Усл. печ. л. 8,40; Уч.-издат. л. 7,17;  
УЭ 09434; Тираж 1150; Заказ 1971;  
Цена 70 коп.

---

გამომცემლობა „მეცნიერება“, თბილისი, 380060, კუტუზოვის ქ., 19  
Издательство «Мецниереба», Тбилиси, 380060, ул. Кутузова, 19, тел. 37-93-78

---

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, завершенные, оригинальные работы экспериментального и теоретического характера по утвержденным редколлегией разделам биологии, обзорные статьи, написанные по заказу редколлегии, 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 выводов печатать не следует.

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

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

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

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

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

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

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

12. Авторы получают бесплатно 12 отдельных оттисков.



643/154

Цена 70 коп

76 204