

BIOLOGICAL SERIES

784-8/  
1982/2

(26)



ISSN—0321—1665

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

ბიოლოგიის  
სერია  
СЕРИЯ  
БИОЛОГИЧЕСКАЯ

1982 N4

თბილისი • თბილი  
• ТБИЛИСИ • ТОМ  
• TBILISI • VOL.

8

СПИСОК РАЗДЕЛОВ БИОЛОГИИ,  
ПО КОТОРЫМ ПРИНИМАЮТСЯ СТАТЬИ

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



საქართველოს სსრ მეცნიერებათა აკადემიის მაცნე  
ИЗВЕСТИЯ АКАДЕМИИ НАУК ГРУЗИНСКОЙ ССР



# ბიოლოგიის სერია СЕРИЯ БИОЛОГИЧЕСКАЯ

ტომი 8, № 4  
Том

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

გამომცემლობა „მეცნიერება“ • თბილისი • 1982  
ИЗДАТЕЛЬСТВО „МЕЦНИЕРЕБА“ • ТБИЛИСИ

სარედაქციო კოლეგია:

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

ლ. გაბუნია, ს. ღურმიშიძე, მ. ზაალიშვილი, გ. თუმანიშვილი,  
გ. კანდელაკი, ნ. კეცხოველი, კ. ნადარეიშვილი, პ. კომეთიანი, ბ. ყურაშვილი,  
ნ. ძიძიშვილი, თ. ჭანიშვილი, შ. ჭანიშვილი, ნ. ჭავჭავაძე  
პასუხისმგებელი მდივანი ს. ლაბაძე

РЕДАКЦИОННАЯ КОЛЛЕГИЯ:

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

Л. К. Габуня, Н. А. Джавахишвили, Н. Н. Дзидзишвили, С. В. Дурмишидзе,  
М. М. Заалишвили, Г. В. Канделаки, Н. Н. Кецховели, П. А. Кометiani,  
Б. Е. Курашвили, К. Ш. Надарейшвили, Г. Д. Туманишвили,  
Т. Г. Чанишвили, Ш. Ф. Чанишвили  
Ответственный секретарь С. Р. Лабадзе

EDITORIAL BOARD:

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

Sh. F. Chanishvili, T. G. 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,  
G. D. Tumanishvili, M. M. Zaalishvili  
Executive Secretary S. R. Labadze

© Известия АН ГССР  
Серия биологическая, 1982



СОДЕРЖАНИЕ — შიგნაპარსი — CONTENTS

17282

В. Н. Чикваидзе. Физиологически активные нейропептиды	221
ვ. ჩიკვაიძე. ფიზიოლოგიურად აქტიური ნეიროპეპტიდები	
V. N. Chikvaïdze. Physiologically active neuropeptides	
М. Г. Кокая, Т. Ш. Лабахуа, В. М. Окуджава. Влияние стрихнина на постсинаптические реакции пирамидных нейронов сенсомоторной коры кошки	232
მ. კოკაია, თ. ლაბახუა, ვ. ოკუჯავა. სტრიქნინის გავლენა კატის სენსომორტორული ქერქის პირამიდული ნეირონების პოსტსინაფსურ რეაქციებზე	
M. G. Kokaia, T. Sh. Labakhua, V. M. Okujava. Effect of strychnine on postsynaptic reactions of pyramidal neurons of sensorimotor cortex in the cat	
И. В. Очерашвили. О поздней отрицательной волне, возникающей в соматосенсорной коре головного мозга кошки при стимуляции вентропостеро-латерального ядра таламуса	238
ი. ოჩერაშვილი. კატის თალამუსის ვენტრო-პოსტერო-ლატერალური ბირთვის გაღიზიანებით გამოწვეული სომატოსენსორული ქერქის მოგვიანო უარყოფითი ტალღის ბუნების შესახებ	
I. V. Ocherashvili. On delayed negative wave of the somatosensory cortex evoked by the stimulation of the thalamic VPL nucleus in the cat	
М. Л. Иткис. Алгоритмы обработки данных прижизненного определения механических свойств головного мозга	244
მ. იტკისი. ცოცხალი თავის ტვინის მექანიკურ თვისებათა განსაზღვრის შედეგთა დამუშავების ალგორითმები	
M. L. Itkis. Algorithms of curve treatment and comparative estimation of the results of <i>in vivo</i> determination of the brain mechanical properties	
Н. В. Карсанов, Л. Е. Гогияшвили, И. Л. Лацабидзе, Е. В. Селихова. Ультраструктурные изменения кардиомиоцитов и сократительные свойства митохондрий при токсико-аллергическом миокардите	251
ნ. კარსანოვი, ლ. გოგიაშვილი, ი. ლაცაბიძე, ე. სელიხოვა. კარდიომიოციტების ულტრასტრუქტურის ცვლილება და მიტოქონდრიების შეკუმშვადი თვისებები ტოქსიკურ-ალერგიული მიოკარდიტის დროს	
N. V. Karsanov, L. E. Gogiashvili, I. L. Latsabidze, E. V. Selikhova. Cardiomyocyte ultrastructural changes and mitochondrial contractile properties in toxic-allergic myocarditis	
Э. И. Дзамоева, Н. Л. Лазриев. Электронномикроскопическое исследование дегенерации миелиновых нервных волокон	259
ე. დამოევა, ი. ლაზრიევი. მიკროსკოპული ნერვული ბოჭკოების გადაგვარების ელექტრონულ-მიკროსკოპული გამოკვლევა	
E. I. Dzamoeva, I. L. Lazriev. Electron microscopical investigation of degeneration of the myelinated nerve fibres	
И. Г. Харебава, Ц. Г. Медулашвили. Изменения ядерно-плазменных отношений нейронов коры больших полушарий собаки в процессе постнатального онтогенеза	267
ი. ხარებავა, ც. მედულაშვილი. ძალის დიდი ტვინის ქერქის ნეირონების ბირთვულ-პლაზმური თანფარდობის ცვლილება პოსტნატალური ონტოგენეზის პროცესში	
I. G. Kharebava, C. G. Medulashvili. Changes of the nuclear-plasma relations of the dog's cerebral cortex in the process of postnatal ontogenesis	
Г. Ш. Нахуцишвили, А. Чернуска, М. Зебер. Особенности фито-климата, солнечной радиации и теплового режима двух экосистем альпийского пояса Центрального Кавказа	272

ბიბლიოთეკის  
სარეზერვუარო  
კატალოგის  
ბიბლიოთეკის

გ. ნახუცრიშვილი, ა. ჩერნუსკა, მ. ზებერი. ცენტრალური კავკასიონის ალპური სარტყლის ორი ეკოსისტემის ფიტოკლიმატის, მზის რადიაციისა და სითბური რეჟიმის თავისებურებები

G. Sh. Nakhutsrishvili, A. Gernuska, M. Seber. Phytoclimate, solar radiation and temperature rate of the two ecosystems of alpine belts of the central Caucasus

Е. И. Ермаков, Ю. И. Возняковская, Л. Г. Картвелишвили. Токсические вещества разлагающихся корней пшеницы в регулируемых условиях

277

ე. ერმაკოვი, ი. ვოზნიაკოვსკაია, ლ. კართველიშვილი. ხორბლის ლომბადი ფესვების ტოქსიკური ნივთიერებანი ხელოვნურად რეგულირებული ზრდის პირობებში

E. I. Ermakov, Ju. I. Vozniakovskaya, L. G. Kartvelishvili. Toxic substances of wheat decomposed roots in regulated conditions

И. Ш. Мегрелишвили, Л. М. Шеварднадзе, В. В. Герасимов, М. М. Заалишвили. Тепловая денатурация реконструированных нуклеогистонов и влияние ультразвука на параметры плавления

282

ი. მეგრელიშვილი, ლ. შევარდნაძე, ვ. ვერასიმოვი, მ. ჯაალიშვილი. რეკონსტრუირებული ნუკლეოპოსტონების სითბური დენატურაცია და ულტრაბგერის ზემოქმედება დნობის პარამეტრებზე

J. Sh. Megrelishvili, L. M. Shevardnadze, V. V. Gerasimov, M. M. Zaalishvili. Thermal denaturation of reconstructed nucleohistones and ultrasonic effect on the melting parameters



УДК 612.432.018+612.821.2.7

БИОХИМИЯ

### ФИЗИОЛОГИЧЕСКИ АКТИВНЫЕ НЕЙРОПЕПТИДЫ

В. Н. Чикваидзе

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

Поступила в редакцию 16.10.1981

Обзор посвящен вопросам биосинтеза и эффективности, свойствам и физиологическим функциям наиболее изученных биологически активных пептидов нервного происхождения. К таким веществам относятся: олигопептиды, стимулирующие запоминание и память, участвующие в механизме обезболивания и в регуляции цикла сон — бодрствование, пептиды, участвующие в «переносе специфических навыков», и др. Обсуждаются биохимические и физиологические механизмы участия олигопептидов в жизненно важных метаболических процессах организма.

Вторая половина XX столетия характеризуется бурным развитием нейробиологии, нейрохимии и нейрофизиологии. Интенсивно исследуются молекулярные механизмы интегративной деятельности ЦНС. Пока не выяснен вопрос, каким образом функционально гетерогенные первые клетки головного мозга избирательно реагируют на разнообразные химические стимулы, поступающие в ЦНС. Для выяснения этого вопроса необходимо установление природы и механизма взаимодействия нейронов с биологически активными соединениями.

За последнее время в мозгу было выявлено строение, путей биосинтеза и комоллекулярных и высокомолекулярных веществ, проявляющих физиологическую активность. Среди них особое место занимают полипептиды, имеющие гормональные свойства и участвующие в нейромодуляторных и нейромедиаторных процессах мозга.

Несмотря на интенсивные исследования строения, путей биосинтеза и физиологической роли пептидных гормонов, мы еще далеки от полного понимания молекулярных основ их действия и участия в сложной интегративной деятельности нервной системы.

По характеру физиологического действия наиболее изученные олиго-

пептиды условно можно разделить на следующие классы: анальгетики, стимуляторы обучения и памяти, регуляторы сна и бодрствования, переносчики специфических навыков — конекторы и др. [1, 2]. Другие известные пептиды, действующие преимущественно на периферии (нейротензин, гастрин, брадикинин, ангиотензин, холецистокинин, ренин, бомбезин и др.), сравнительно менее изучены; не выяснена их роль в активности нервной системы.

Постоянно возрастающий интерес ученых к нейропептидам объясняется их большой активностью и гормональным эффектом, проявляющимися участием в регуляции таких основных процессов нервной деятельности, как явление памяти, сна, боли и поведенческих актов. Действие нейропептидов имеет гормональный характер; доставляются они к эффектору кровью или аксоплазматическим транспортом.

Нарушение в мозгу метаболизма некоторых нейропептидов является причиной ряда тяжелых нервных и соматических расстройств [4, 51]. В последнее время при лечении многих заболеваний большое внимание уделяется нейропептидам и их дериватам в клинике [4].

Открытие в мозговой ткани биологически весьма активных гормональ-



ных соединений пептидной природы дало начало новому разделу нейробиологии и открыло новые перспективы в распознавании функций ЦНС и их химической регуляции [6].

Одним из важных достижений последнего десятилетия в биологии можно считать открытие в мозгу животных нейропептидов с морфиноподобной активностью. Эта группа нейропептидов была названа эндорфинами — эндогенными морфинами. Стимул этим открытиям дало обнаружение в мозгу человека и всех млекопитающих (кроме безпозвоночных) так называемых опиатных рецепторов, специфически чувствительных к морфиноподобным веществам [47]. Исходя из физиологического значения опиатных рецепторов, логично было предположить возможное существование в организме животных эндогенных лигандов для опиатных рецепторов [27]. Очень скоро после этого предположения из мозговой ткани были выделены кислотнорастворимые пептиды, имеющие свойства наркотических анальгетиков [66]. Эти олигопептиды были названы энкефалинами. Позднее из мозга были выделены пептиды с более длинной цепочкой аминокислот, получившие название эндорфинов или внутренних морфинов.

Энкефалины и эндорфины, эти морфиноподобные соединения эндогенного происхождения, с разной активностью связываются с опиатными рецепторами мозга и блокируют болевую чувствительность [32, 59].

Биохимическими и фармакологическими исследованиями в мозгу животных были идентифицированы мю и дельта опиатные рецепторы. Мю рецепторы обнаруживаются в тех участках мозга, которые преимущественно вовлечены в интегрирование сенсорных восприятий, а дельта рецепторы находят в отделах, участвующих в восприятии эмоциональных раздражений (различные участки лимбической системы). В головном мозгу, в участках, принимающих болевое восприятие, находят строгий параллелизм между распределением энкефалиновых нейронов и опиатных рецепторов.

В значительной мере уже известно распределение, структура, основные функции и биохимические механизмы действия эндогенных опиатов мозгового происхождения [47, 66]. Уже

синтезированы не только известные опиатные олигопептиды, но и многочисленные их аналоги, физиологические, биохимические и фармакологические эффекты которых интенсивно изучаются.

Имеется два вида энкефалина: метионин /мет/ энкефалин и лейцин /лей/ энкефалин, молекулы которых состоят из пяти аминокислот и отличаются только наличием метионина или лейцина в цепочке. В мозговой ткани наибольшее количество энкефалинов обнаруживается в полосатом теле, гипоталамусе, лимбической системе и в желатинообразной субстанции спинного мозга [24, 25]; сравнительно меньше их в коре и вообще нет в мозжечке [63].

Эндорфины, в основном, сконцентрированы в передней доле гипофиза, а также в гипоталамусе [45, 55]. Имеются указания на то, что эндорфины, обнаруживаемые в других участках мозга, не гипофизарного происхождения, а синтезируются локально, в самих нейронах [36].

Поскольку начальный фрагмент эндорфинов по аминокислотной последовательности полипептидом идентичен структуре мет-энкефалина, некоторые авторы считают эндорфины прелшественниками последнего [59]. Имеются указания о том, что лей-энкефалин образуется из высокополимерного прелшественника, который обнаруживается в задней доле гипофиза [17]. Кроме мозга, высокую концентрацию энкефалинов находят в эпителии желудочно-кишечного тракта позвоночных животных. Количественное соотношение мет-энкефалина и лей-энкефалина в мозгу у разных видов животных разное [34]; функциональная значимость этого феномена пока не установлена.

Гистохимические исследования показали, что в мозгу энкефалины локализованы в цитоплазме нервных окончаний [58] норадренергических, дофаминергических и холинергических областей [6].

В имеющихся немногочисленных сведениях [26] указывается, что вероятным источником эндорфинов может быть гипофизарный белок — «про-опиокортин», с молекулярным весом 28,5—31 тыс. дальтон. Продуктами частичного гидролиза этого белка должны быть: адреноректоротроп-

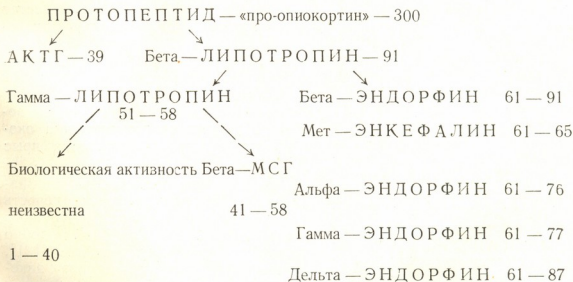


ный гормон — АКТГ /н-39/ и бета-липотропин ЛПТ /н-91/. Это предположение подтверждается исследованиями, в которых указывается прямая количественная корреляция между АКТГ и бета-ЛПТ в плазме крови человека [35], и тем, что в секреторных гранулах гипофиза кортикотропные клетки считаются местом продукции и локализации АКТГ и бета-ЛПТ [48]. В 1965 г. впервые был выделен бета-липотропный гормон и была установлена его аминокислотная последовательность [40], однако до сих пор не установлена физиологическая роль этого полипептида. Известно только, что бета-ЛПТ участвует в регуляции жирового обмена [37] и не обладает морфиноподобной активностью [17, 40].

Предполагают, что пептидаза гипофиза бета-ЛПТ расщепляется на гамма-липотропин /н-59/ и бета-эндорфин /н-31/ (схема). Конечный фрагмент гамма-липотропина /н-41—58/ идентифицируется как бета-меланоцитстимулирующий гормон (бета-МСТ), содержащий в молекуле тетрапептид /47—50/, стимулирующий за-  
поминание [3].

Молекула бета-эндорфина состоит из 31 аминокислотной цепочки и является, как уже было отмечено, конечным С фрагментом бета-ЛПТ /н-61—91/. В настоящее время бета-эндорфин синтезирован; усиленно изучаются физико-химические свойства и вторичная структура этого интересного полипептида. Уже установлено, что некоторые синтетические аналоги бета-

### Схема путей синтеза олигопептидов



В связи с тем, что аминокислотная последовательность С концевой фрагмента бета-ЛПТ и бета-эндорфина полностью идентична, считают, что бета-ЛПТ должен являться предшественником бета-эндорфина [42]. Это предположение подтверждается и результатами исследований, обнаруживших в синаптических пузырьках бета-ЛПТ и бета-эндорфин [23]. Кроме того, иммуноцитохимическими исследованиями было показано, что оба эти полипептида одновременно локализованы в «варикоцитах», в клеточных элементах, которые должны выделять нейротрансмиттеры и нейромодуляторы [13, 49]. Между тем некоторые исследователи сомневаются в правильности такого пути биосинтеза бета-эндорфина [54].

бета-эндорфина характеризуются значительной биологической активностью.

В гипофизе и гипоталамусе также был обнаружен целый ряд других эндорфинов, имеющих более короткие пептидные цепочки и проявляющих опиятную активность. При идентификации этих эндорфинов выяснилось, что они все являются начальными фрагментами бета-эндорфина и, по-видимому, продуктами его частичного протеолиза [28]. Эти вещества были названы: альфа /н-61—76/, гамма /61—77/, и дельта /н-61—87/ эндорфинами.

Чрезвычайно интересными являются исследования, которыми установлено, что цельная молекула бета-эндорфина и отдельные его фрагменты проявляют как сходную, так и отлич-



чительную биологическую активность. Это явление, безусловно, должно указывать на тонкий и одновременно весьма сложный механизм физиологического действия эндогенных опиатов.

Несмотря на то, что энкефалины проявляют идентичное с морфином сродство к опиатным рецепторам, лей-энкефалин считается истинным агонистом наркотических анальгетиков, тогда как мет-энкефалин проявляет агонисто-антагонистическую активность [61]. Не исключено, что этот факт является причиной неодинаковой степени связывания этих олигопептидов с опиатными рецепторами.

Имеются сведения о том, что в отдельных участках мозга, в определенных условиях, эндогенные опиаты могут связываться также с рецепторами истинных нейротрансмиттеров, модулировать их эффект и таким образом проявлять свою физиологическую активность.

В опытах *in vivo* многими авторами были показаны выраженные анальгетические свойства эндорфинов и энкефалинов. Наибольшую и длительную анальгетическую активность при внутривенном [69] и внутримозговом введении проявляет бета-эндорфин, превышающий эффект морфина в десятки и в сотни раз [41, 43]. Аппликация бета-эндорфина к ноцицептивным нейронам таламуса полностью предупреждала активирующее влияние болевого раздражения [29]. В этих исследованиях показателем анальгетического эффекта служили тесты: с горячей пластинкой; сдвигивание хвоста; реакция отдергивания хвоста [22]. Введение животным специфического антагониста опиатов налaksana /N-аллилморфин/ полностью устраняло эффекты бета-эндорфина.

Сравнительно кратковременный и менее обезболивающий эффект оказывают энкефалины и альфа-эндорфин при внутрижелудочковом и, особенно, при внутривенном введении. Что касается гамма- и дельта-эндорфинов, они еще слабее проявляют анальгетическую активность [28]. Такой эффект энкефалинов можно объяснить их быстрым инактивированием многочисленными, весьма активными, пептидазами, находящимися в крови и спинномозговой жидкости.

Причиной сильного и длительного анальгетического действия бета-эндор-

фина некоторые авторы считают точивость его более защищенных активных групп к пептидазам [11, 12].

Установлено, что кроме анальгезии, эндогенные опиаты у животных вызывают и другие физиологические эффекты [43]. Внутривенное введение кошкам бета-эндорфина (50 мкг/кг) вызывает реакцию облизывания и уменьшения передвижения [16], а его внутрицистернальное введение крысам сопровождается встряхиванием тела, обильной саливацией и клоническими судорогами [30].

После внутрицистернального введения мет-энкефалина у животных отмечается: беспокойство, чихание, повышенная рефлекторная активность, учащение дефекации, что, однако, не наблюдается при введении лей-энкефалина. Введение крысам и кошкам в боковые желудочки энкефалина в дозе 100 мкг — 1 мг сопровождается обезболивающим эффектом [22] и зависимостью [47]. Анальгетический эффект и зависимость к морфину и энкефалинам были получены также при ионофоретическом подведении их к нейронам коры головного мозга, хвостатого ядра и серого вещества околоводопроводного пространства крыс [2].

При изучении воздействия энкефалинов на биоэлектрическую активность нервных клеток головного и спинного мозга выяснилось, что они, подобно морфину, влияют угнетающе [21]. Ионофоретическое подведение энкефалинов или морфина к нейронам заднего рога спинного мозга или введение их в желатинообразную субстанцию наркотизированным кошкам подавляло вызванную болевым раздражением активность [21]. Мет-энкефалин в коре [78] и таламусе одинаково подавляет спонтанную и вызванную глутаминовой кислотой или болевым раздражением активность нейронов [29]. Примечательно, что нигибирующий эффект энкефалинов на электрическую активность проявляется только при болевом раздражении, тогда как для эндорфинов природа вызова раздражения не имеет значения [21]. Микроэлектрофизиологическими исследованиями одновременно было установлено, что налаксон частично или полностью устраняет эффект энкефалинов и морфина, связан-



ный с электрической активностью нейронов [25, 78].

Результаты вышеизложенных исследований, проведенных на разных видах животных, разрешают заключить, что эффект энкефалинов и экзогенных морфиноподобных веществ на электрическую активность нервной ткани в основном идентичен. Эти вещества также одинаково реагируют с опиатными рецепторами и вызывают непродолжительную аналгезию и зависимость, что еще раз подкрепляет концепцию об энкефалинах как эндогенных лигандах опиатных рецепторов. Результаты этих исследований также подтверждают предположение некоторых исследователей, рассматривающих энкефалины как своеобразные модуляторы, изменяющие активность сенсорных нейронов, ответственных за болевое восприятие, в результате их взаимодействия с опиатными рецепторами [34]. Небезынтересно отметить, что в биохимическом механизме гипнотического состояния и аналгетическом эффекте иглотерапии выделение эндогенных опиатов в определенных участках мозга придают существенное значение [50].

Несмотря на большие усилия исследователей, пока полностью не выяснен биохимический механизм действия опиатов. Согласно имеющимся сведениям, эндорфины и энкефалины в малых количествах сильно подавляют активность аденилциклазы и таким образом регулируют биосинтез циклической 3,5-АМФ /цАМФ/ [5, 76].

Установлено, что эндогенные опиаты также влияют на биосинтез некоторых гормонов, ацетилхолина и биогенных аминов [52, 73], активируют гликолиз и окислительное фосфорилирование. Было также показано, что нейропептиды в определенной мере участвуют в регуляции биосинтеза ДНК, РНК и некоторых белков [5].

В опытах *in vitro* бета-эндорфин угнетает выделение дофамина из срезов полосатого тела в условиях высокой концентрации ионов калия [4], а энкефалины ингибируют увеличение содержания цАМФ в культуре нейробластома+глиома, вызванное простагландином Е, однако налаксон снимает этот эффект энкефалинов [68].

Вышеприведенные исследования наглядно показывают, что олигопептиды

нервного происхождения оказывают существенное влияние на основные, жизненно важные метаболические процессы и таким образом регулируют и стимулируют отдельные функции организма.

Дальнейшими исследованиями выяснилось, что эндогенные пептиды-аналгетики также оказывают большое влияние на другие функции организма, в частности на поведение и память разных видов животных [11, 43]. В этом отношении физиологическая активность бета-эндорфина при внутримозговом введении в несколько десятков раз превосходит эффект энкефалинов, альфа- и дельта-эндорфинов [19].

Достаточно сильную биологическую активность проявляет фрагмент бета-ЛПТ /п-61—69/ в условиях изучения у крыс реакции активного избегания. Полученный факт был особенно интересен потому, что этот нонапептид является одновременно начальным фрагментом бета-эндорфина и не характеризуется аналгетической активностью.

До открытия эндогенных опиатов было известно, что некоторые полипептидные гормоны гипофизарного происхождения, независимо от их гормональной активности, стимулируют у животных выработку и закрепление разнообразных условных рефлексов. Такими эндогенными веществами оказались АКТГ, бета-МСГ и вазопрессин [19, 59]. Выяснилось, что удаление гипофиза снижает способность животных к обучению [18], а введение АКТГ или бета-МСГ полностью восстанавливает у них запоминание [18]. В последующих исследованиях в молекулах АКТГ, бета-МСГ, а также в бета-ЛПТ был выявлен

Таблица

**Пептиды — стимуляторы памяти и обучения**

Фрагмент — МЕТ — ГЛЮ — ГИС — ФЕН

АКТГ — 4 — 7

Бета — МСГ — 7 — 10 свинья

Бета — МСГ — 8 — 11 бык

Бета — МСГ — 10 — 13 человек

Бета — ЛПТ — 47 — 50

идентичный по аминокислотному составу тетрапептид МЕТ-ГЛЮ-ГИС-ФЕН (таблица), стимулирующий обучение животных, но не имеющий гормональной активности [19].

Позднее было установлено, что АКТГ и бета-МСГ ответственны за индуктивную выработку условных рефлексов, а вазопрессин за консолидацию и длительное сохранение приобретенных навыков [1, 50]. Лизил вазопрессин является нонапептидом и тоже эффективно действует на обучаемость и долговременную память животных.

Уже синтезированы сверхактивные аналоги некоторых гипофизных нейропептидов, лишенные гормональной активности и стимулирующие память животных, что с физиологической точки зрения заслуживает большого внимания.

В мозгу также обнаружены другие, менее эффективные, пептидные факторы, стимулирующие обучение, например кортикотропный белок [72], меланоцит-ингибирующий фактор [44] и другие [74].

По нашему мнению, очень интересным и многообещающим является обнаружение в мозгу животных, обученных разными способами, низкомолекулярных соединений пептидной природы, ответственных за «перенос» индивидуально приобретенных специфических навыков [9, 80]. Согласно мнению сторонников «переноса навыков», в мозгу животных-доноров в процессе обучения образуются особые вещества, которые после введения интактным реципиентам способны вызвать специфический комплекс поведенческих реакций, характерных для доноров. Противники же этой теории считают, что пептидные факторы «переноса навыков» стимулируют не конкретные и специфические поведенческие реакции, а участвуют в регуляции целого ряда функциональных проявлений организма; двигательная активность, настороженность животного, реализация неспецифических стрессовых реакций и др. [8].

Сторонники химического «переноса специфических навыков» доказывают свои предположения многочисленными данными, полученными ими на низших и высших животных, используя разные подходы и методы обучения. В этих экспериментах условные рефлексы у животных вырабатывались на: пищевое подкрепление, цвет, запахи [79], предпочтение левой и правой лапы [53]. Использовались

также методы водной депривации и активного избегания [14] и др.

Экстракт мозга животных, обученных таким образом, вводимый в желудочки мозга интактных реципиентов, почти всегда стимулировал воспроизведение специфических поведенческих реакций у последних или значительно облегчал у них выработку характерных для доноров специфических навыков. В дальнейших исследованиях было выяснено, что физиологически активные субстраты доноров требуются лишь для запуска определенных механизмов обучения подопытного животного [39], после чего они быстро исчезают [77].

Используя разные методы экстракции, из мозга обученных животных уже выделили различные факторы полипептидной природы, обладающие способностью вызвать специфическую поведенческую реакцию у реципиентов. Некоторые из них химически уже расшифрованы и даже синтезированы. Такими веществами оказались гексапептид-амелитин [15], пентадекапептид-скотофобин и др. [70, 71]. Эти эксперименты наводят на мысль о том, что в определенных условиях выработанные в организме животного специальные полипептиды могут выполнять специфические информационные функции и таким образом участвовать в выработке отдельных форм поведения.

Аналогией переноса приобретенной информации определенными химическими веществами можно считать давно применяемые в медицинской практике методы пассивной иммунизации, когда пациентам-реципиентам с целью профилактики (корь, скарлатина и др.) вводят иммунные тела, выработанные в организме доноров.

Нам кажется целесообразным и важным с биологической точки зрения привести результаты тех исследований, которыми показано, что определенные, пока неполностью идентифицированные, пептидные факторы участвуют также во многих врожденных, генетически детерминированных актах поведения животных разных уровней онтогенетического развития. Авторы этих исследований считают, что с образованием в организме животных специфических пептидных факторов связано появление таких реакций, какими являются: приспособительная



смена окраски у рыб, ракообразных и амфибий, ежегодное миграционное поведение птиц, территориально доминированное поведение монгольских пещанок и др. [70]. Установлено, что предварительное введение животным ингибиторов биосинтеза пептидов (бацилтрацина, актиномицина или пурамицина) подавляет эти поведенческие реакции. Таким образом, результаты вышеприведенных исследований дают основание придать эндогенным полипептидам роль регулятора целого ряда поведенческих реакций животных.

Мы хотим остановиться на еще одной важной (с физиологической точки зрения) функции нейропептидов. Дело в том, что, согласно исследованиям последнего десятилетия, некоторые эндогенные олигопептиды можно рассматривать в качестве естественных факторов, участвующих в цикле сна и бодрствования. Сон — это очень сложный физиологический процесс, имеющий несколько форм и стадий. В настоящее время не только полностью не изучен его биохимический механизм, но пока еще недостаточно ясна физиологическая роль сна для организма в целом и для ЦНС в частности.

Некоторые исследователи считают сон в раннем онтогенезе приобретенным поведением [56], имеющим тесную связь с процессами формирования памяти [38]. Фармакологические снотворные вещества, используемые в медицинской практике, не могут полностью воспроизвести нормальный, естественный сон со всем комплексом характерных для него элементов. Поэтому еще в начале XX столетия ученые стремились найти эндогенные химические агенты, способные вызвать сон. Однако только в 1964 г., после использования электрического раздражения гипнотического участка гипоталамуса и перекрестного кровообращения, ученые смогли усыпить другое животное [46]. Спустя десять лет из крови таким образом усыпленных животных удалось выделить фактор пептидной природы, способный индуцировать у интактных животных некоторые элементы сна (серия веретенообразных волн, характерных для сна дельта-волн и другие физиологические параметры) [46, 57] при интравентрикулярном или внутривенном введении [57]. Выделенный фактор, не

имеющий видовую специфичность, названный дельтапептидом сна, оказался нонапептидом, и во многих лабораториях была полностью воспроизведена его структура.

В мозговой ткани и спинномозговой жидкости депривированных сном коз и крыс были обнаружены и другие факторы сна, которые также оказались пептидами, но их химическая структура значительно отличается от структуры дельтапептида сна [20, 71]. Правда, пептидные факторы сна индуцируют только отдельные элементы его парадоксальной фазы и пока нет указаний о их участии в процессе ортодоксальной фазы сна, поскольку они являются эндогенными и, следовательно, физиологическими веществами, безусловно заслуживающими исключительный интерес для распознавания этой сложной физиологической функции ЦНС.

Интересным и важным для изучения многообразной и интегративной функции нервной системы является разъяснение роли нейропептидов в синаптической передаче. Уже известно, что межнейрональная передача информации осуществляется в результате выделения в синаптических окончаниях нейротрансмиттеров. Многочисленные экспериментальные данные последних лет разрешают предположить, что некоторые нейропептиды должны играть нейромодуляторную или нейромедиаторную роль в процессах синаптической передачи [64]. Такими данными можно считать: 1. избирательное распределение некоторых нейропептидов в дофаминергических, норадреналинергических и холинергических областях; 2. их синаптическая локализация; 3. изменение электрической активности нервных клеток после воздействия нейропептидов на соответствующие рецепторы и др. Исследователи полагают, что нейромедиаторная и модуляторная функции нейропептидов должны ограничиваться определенными участками или набором нервных клеток головного и спинного мозга [31].

К такой группе пептидных соединений, в первую очередь, можно отнести: субстанцию Р/уидекапептид Р/, энкефалины, дипептид — карнозин, соматостатин, окситоцин и др. Субстанция Р считается нейротрансмиттером в сенсорных нервных окончаниях. Со-

единение в большом количестве обнаруживается в коре, спинном мозге, в черной субстанции и в других участках мозга [33, 42, 65]; оно возбуждающе действует на нейроны коры, гипоталамуса, черной субстанции и некоторые клетки спинного мозга. С использованием иммуногистохимических и иммунофлуоресцентных методов анализа была выявлена соматостатиноподобная и окситоциноподобная активность синаптических окончаний коры, гипоталамуса и других областей мозга [31]. Иммуногистохимические и электрофизиологические исследования показывают, что в определенных нервных окончаниях медиаторную или модуляторную функцию могут играть вазопрессин, ангиотензин, тиростропин, а также некоторые так называемые релизинг-факторы гипоталамического происхождения, обладающие гормональной активностью.

Физиологический механизм этого феномена представляют следующие образцы. После прихода в мозг соответствующего сигнала в энкефалинергических нервных окончаниях выделяются энкефалины. Они сразу связываются с опиатными рецепторами, локализованными на пресинаптических мембранах, ограничивают приток импульсов путем деполаризации последних и таким образом регулируют выделение медиаторов в синаптическую щель [6]. Энкефалины могут связываться также с опиатными рецепторами, локализованными на пресинаптической мембране, изменять ее проницаемость для активных ионов и таким образом воздействовать на физиологическую активность нейрона.

Биохимическое объяснение эффекта энкефалинов можно представить так.

Фермент аденилциклаза и опиатные рецепторы локализованы на одной мембране очень близко и имеют тесные химические контакты. Поэтому связывание энкефалинов с опиатными рецепторами, по-видимому, вызывает такие конформационные изменения в мембране, которые сопровождаются снижением активности аденилциклазы и, следовательно, уменьшением уровня цАМФ, что и должно обуславливать, в конечном итоге, физиологические и фармакологические эффекты эндорфинов и энкефалинов.

Недавно был обнаружен еще один аспект действия пептидов, имеющий, на наш взгляд, большое физиологическое значение. В лаборатории Института физиологии АН ГССР из трихлоруксусного осадка гомогената мозга, с помощью органических растворителей, были экстрагированы фосфолипиды, участвующие в устраниении аммиака [8, 10]. Если считать, что аммиак является одним из основных показателей функциональной активности нервной системы, то обнаружение в мозгу еще одного, совершенно нового класса веществ, участвующих в метаболизме аммиака в мозговой ткани, является шагом вперед в распознавании тончайших биохимических механизмов этого таинственного и сложнейшего органа животного организма.

В этом сообщении, конечно, мы не смогли охарактеризовать все уже известные физиологически активные вещества пептидной природы, однако, все вышеприведенные экспериментальные данные, на наш взгляд, убедительно указывают на широкий физиологический спектр действия пептидов и на их важнейшее значение в жизнедеятельности организма.

## ЛИТЕРАТУРА

1. Ашмарин И. П. Эволюция биохим. и физиол., 13, 370—578, 1977.
2. Ашмарин И. П. Эволюц. биохим. и физиол., 13, 5, 570—578, 1977.
3. Ашмарин И. П., Еропкин М. Ю., Ковалева Т. А., Рожанец В. В. Мол. биол., 12, 5, 965—979, 1978.
4. Баранов В. Г. Руководство по клинической эндокринологии, «Медицина», М., 1977.
5. Бондаренко Т. И. В сб.: Нейрохимия, Изд-во Ростовского ун-та, 1977, 136—153.
6. Вартамян М. Е., Лидеман Р. К., Ж. невроп. и психиатр. им. С. С. Корсакова, 78, 4, 518—529, 1978.
7. Дергачев В. В. Молекулярные и клеточные механизмы памяти, «Медицина», М., 1977.
8. Шерстнев В. В., Полетаев А. Б., Долгов О. Н. Успехи совр. физиол., 10, 3, 66—86, 1979.
9. Унгар Г. Физиол. чел., 3, 5, 87—112, 1977.
10. Эдилашвили Л. А., Гаришвили Т. Г. Сообщения АН ГССР, 97, 1, 137—176, 1980.



11. Bloom F., Segal D., Ling N., Ereil-  
lemin R. *Science*, **10**, 610-632, 1976.

12. Bloom F., Bateenbug A., Rossia I.,  
Ling N., Leppoluoto I., Visgo  
T. M., Guillemin R. *Life Sci.*, **20**,  
43-48, 1977.

13. Bloom F., Battenberg E., Rossier  
I., Ling N., Guillemin R. *Proc.  
Nat. Acad. Sci. Wash.*, **75**, 1591-1595,  
1978.

14. Brand W. E., Hoffman R. B. J. *Com-  
par. Physiol. Psychol.*, **84**, 2, 304-312,  
1973.

15. Burzynski S. D. *Anal. Biochem.*, **70**, 2,  
359-365, 1976.

16. Catlin D. H., George R., Li C. H. *Life  
Sci.*, **23**, 2147-2154, 1978.

17. Cok B. M., Goldstein A., Li C. H.  
*Proc. Nat. Acad. Sci. USA*, **73**, 1821-  
1823, 1976.

18. Wied D. In: *Memory and Information*,  
New York, Acad. Press, 1973, 373-389.

19. De Wied D. *Life Sci.*, **20**, 195-204, 1977.

20. Drucker-Colin R. R. *Erain Res.*, **56**,  
123-134, 1973.

21. Duggan A. W., Hall I., Headly P. M.  
*Nature*, **264**, 456-458, 1976.

22. Feldberg W. S., Smyth D. I. *J. Phy-  
siol. (London)*, **260**, 30-31, 1976.

23. Fluta I., Nakai Y., Imura H. *Neuro-  
sci.*, **19**, 79-83, 1980.

24. Fratta W., Yang H. Y., Hong J.,  
Costa E. *Nature*, **268**, 5619, 452-453,  
1977.

25. Frederickson R. C. A., Norris F. M.  
*Science*, **199**, 440-442, 1976.

26. Giagnini G., Sald S. L., Nirenberg  
M. *Proc. Nat. Acad. Sci. USA*, **74**, 2256-  
2263, 1977.

27. Goldstein A. *Science*, **193**, 1081-1086,  
1976.

28. Goldstein A., Goldstein J. S.,  
Cox B. M. *Life Sci.*, **17**, 1643-1654,  
1975.

28a. Guillemin R. *New Engl. J. Med.*, **296**,  
226-228, 1977.

29. Hill R. G., Pepper C. M. *Brit. J.  
Pharmacol.*, **56**, 459-460, 1976.

30. Holaday I. W., Loh H. H., Li C. H.  
*Life Sci.*, **22**, 1525-1536, 1978.

31. Hokfelt T. *Acta Pharmac. Toxicol.*,  
**41**, Suppl. 4, 25, 1977.

32. Hughes I. *Erain Res.*, **88**, 295-308, 1975.

33. Iversen L. L., Kelly I. S., Munchin  
M., Sohnon F., Shodgrass S. R.  
*Erain Res.*, **62**, 2, 567-576, 1973.

34. Kosterlitz H. W., Hughes I. *Life Sci.*,  
**17**, 91-96, 1975.

35. Krieger D. T., Liotta C. M., Li C.  
H. *Life Sci.*, **21**, 1771-1778, 1977.

36. Krieger D. T., Liotta A. S., Nic-  
sen G., Kizu I. S. *Nature. (London)*,  
**278**, 562-565, 1979.

37. Bella F., Queen G., Senyshyn I.,  
Lis M., Chectein M. *Biochim.  
Biophys. Res. Commun.*, **75**, 2, 350-357,  
1977.

38. Lambert I. F. *Agressology*, **17**, 1, 1-18,  
1976.

39. Landgrave T. S. *Physiol. Bull.*, **81**, 12,  
1078-1095, 1974.

40. Li C. H., Barnafi L., Chreitein M.,  
Chung D. *Nature (London)*, **208**, 1093-  
1094, 1965.

41. Loh H. H., Brase D. A., Sampath-  
Khanna S. *Nature*, **264**, 567-568, 1976.

42. Lotta A. S., Loudes C., McKelvy  
I. F., Krieger D. T. *Acad. Sci. Wash.*,  
**77**, 1880-1884, 1980.

43. Maglio M., Hosobuchi Y., Loh H.  
H., Adams J. E., Li C. H. *Proc. Nat.  
Acad. Sci. USA*, **74**, 774-776, 1977.

44. Marx I. L. *Science*, **190**, 4214, 544-549,  
1975.

45. Metsakura S., Yoshima H., Sucoka  
S., Kataoka K., Ono T., Ohgushi  
N. *Erain Res.*, **159**, 228-233, 1978.

46. Monnier M., Hosli L. *Science*, **146**,  
796-798, 1964.

47. Pert A., Snyder S. H. *Science*, **179**,  
1011-1014, 1973.

48. Polletier G., Lectere R., Labrie F.,  
Cote T., Chretien M., Lis M. *Endo-  
crinology*, **100**, 770-776, 1977.

49. Polletier G., Desy I., Lissitzki  
I. C., Labie F., Li C. H. *Life Sci.*,  
**22**, 1799-1804, 1978.

50. Pomeranz B. *New Sci.*, **73**, 1033, 12-  
13, 1977.

51. Rokopski P., Grieba F., Wide-  
man I. *Brain Res.*, **211**, 221-226, 1981.

52. Ramsay D. J. In: *Proc. Intern. Union  
Physiol. Sci. (Paris)*, **13**, 1977.

53. Rosenblatt F., Rosen S. In: *Biology of me-  
mory*. New York, Acad. Press, 171-182,  
1973.

54. Ross M., Dingleline R., Cox B. M.,  
Goldstein A. *Brain Res.*, **124**, 523-  
532, 1977.

55. Rossier J., Vargo T. M., Minick S.,  
Ling N., Bloom F. E., Guillemin  
R. *Proc. Nat. Acad. Sci. Wash.*, **74**,  
5162-5165, 1977.

56. Sandman C. A., Kastin A. I.,  
Schally A. V. *Experientia*, **25**, 1001-  
1002, 1969.

57. Schoenenberger G., Monnier M. In:  
*Erain and Sleep*, Amsterdam, 1974, 39-  
69.

58. Simantov R., Snowman A. M., Snyder  
S. H. *Brain Res.*, **107**, 650-657,  
1976.



59. Simantov R., Snyder S. H. Proc. Nat. Acad. Sci. USA, 73, 7, 2515—2519, 1976.  
 60. Simantov R., Snyder S. H. In: Opiates and Endogenous Opioid Peptides, Ed Kosterlitz, North Publishing Co, Amsterdam, 1976, 41—48.  
 61. Simantov R., Snyder S. H. Molec. Pharmacol., 12, 6, 987—998, 1976.  
 62. Simantov R. W., Kuhar M. J., Uhl G. R., Snyder S. H. Proc. Nat. Acad. Sci. USA, 74, 2171—2177, 1977.  
 63. Smith T. W., Hunhes I., Kosterlitz H. W., Sosa R. P. In: Opiates and Endogenous Opioid Peptides, Ed Kosterlitz, North Publishing Co, Amsterdam, 1976, 57—62.  
 64. Snyder S. H. Science, 209, 4460, 976—983, 1980.  
 65. Takahashi T., Otsuka M. Brain Res., 87, 1, 1—11, 1975.  
 66. Terenius L., Wahistrom A. Acta Pharmacol. Toxicol., 35, Suppl. I, 55—59, 1974.  
 67. Terenius Z., Wahlstrom H. Life Sci., 16, 12, 1759—1764, 1975.  
 68. Trafer I., Glaser T., Brandt M., Klebenberger W., Hamprecht B. EFBS Letters, 81, 2, 351—354, 1977.  
 69. Tseng Liang-Fu, Loh H. H., Li C. H. Biochim. Biophys. Res. Commun., 74, 390—396, 1977.  
 70. Ungar G. Inter. Rev. Neurobiol., 37—60, 1975.  
 71. Uchizono K., Higashi A., Iriki M., Nagasaki M., Ishikawa M., Kodama Y., Inone S., Houda K. Proc. Internat. Union Physiol. Sci., 27th Internat. Congr. (Paris), 13, 679, 1977.  
 72. Van Wieersma T. B., Lowry G. P., Scott H. P., Rees L. H., De Wied D. Horm. Behav., 6, 4, 319—327, 1975.  
 73. Vidal N. A., Martinezceter A., Fernandez B. E., Dominquez A. E., Taguinia C. Arch. Int. Physiol. Biochem., 82, 4, 591—596, 1974.  
 74. Verhief I., Witter A., De Wied D. Brain Res., 131, 1, 117—128, 1977.  
 75. Watson S. I., Barchas I. D., Li C. H. Proc. Nat. Acad. Sci. Wash., 74, 5155—5158, 1977.  
 76. Wiegant W. M., Gispen W. H. Exptl. Brain Res., 23, Suppl., 219, 1975.  
 77. Witter A. Biochem. Pharmacol., 24, 22, 2025—2030, 1975.  
 78. Zieglansberger W., Fzy J. P., Hezz A. Brain Res., 115, 160—164, 1976.  
 79. Zippel H. P., Domag S. T. Pflugers Arch. gen. Physiol., 323, 3, 265—271, 1971.  
 80. Zippel H. P. Memory and transfer Information, New York, Acad. Press, 1973.

ფიზიოლოგიურად აქტიური ნეიროკიპტიდები

3. ჩიკაიძე

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

რ ე ზ ი ე მ ე

მიმოხილვა მიძღვნილია ნერვული წარმოშობის ზოგიერთი ბიოლოგიურად აქტიური პეპტიდის ბიოგენეზის გზების, თვისებების, ეფექტურობისა და ფიზიოლოგიურ ფუნქციებისადმი. ამგვარ ნივთიერებებს მიეკუთვნებიან ოლიგოპეპტიდები, რომლებიც იწვევენ მეხსიერებისა და დამახსოვრების სტიმულირებას, მონაწილეობენ გაუმტკიცების მექანიზმში, ძილ-

ღვიძლის ციკლის რეგულირებაში, „სუბციფიკური ჩვევის გადატანაში“ და სხვა. განხილულია ორგანიზმის სასიცოცხლო მნიშვნელობის მქონე მეტაბოლურ პროცესებში ოლიგოპეპტიდების მონაწილეობის ბიოქიმიური და ფიზიოლოგიური მექანიზმები და მათი წვლილი ორგანიზმის ცალკეული ფუნქციის რეგულირებაში.

# PHYSIOLOGICALLY ACTIVE NEUROPEPTIDES



V. N. CHIKVAIDZE

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

## Summary

The present review deals with the ways of biosynthesis, effectiveness, properties and physiological functions of the well studied biologically active nerve peptides. Among these peptides are: oligopeptides, stimulating the processes of remembrance and memory, participating in anaesthetization mechanism and regu-

lation of the sleep-wakefulness cycle as well as peptides participating in the "transmission of specific skills". Biochemical and physiological mechanisms of oligopeptides, participation in the most vital metabolic processes of organism and thus regulating its individual functions are discussed.



УДК 612.825

ФИЗИОЛОГИЯ ЧЕЛОВЕКА И ЖИВОТНЫХ

## ВЛИЯНИЕ СТРИХНИНА НА ПОСТСИНАПТИЧЕСКИЕ РЕАКЦИИ ПИРАМИДНЫХ НЕЙРОНОВ СЕНСОМОТОРНОЙ КОРЫ КОШКИ

М. Г. Кокая, Т. Ш. Лабахуа, В. М. Окуджава

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

Поступила в редакцию 15.04.1982

На кошках, обездвиженных миорелаксантами, под легким нембуталовым наркозом (25—30 мг/кг), методом внутриклеточной регистрации электрической активности нейронов, было показано, что при нанесении на поверхность коры или же при ионофоретическом подведении непосредственно к регистрируемой области стрихнин блокирует в пирамидных нейронах коры преимущественно ранний, но не поздний, компонент тормозного постсинаптического потенциала (ТПСП), вызванного электрической стимуляцией вентролатерального (ВД) ядра таламуса и прямым корковым раздражением. Обсуждается различие в генезе раннего и позднего компонентов ТПСП пирамидных нейронов коры больших полушарий.

### ВВЕДЕНИЕ

Существующие экспериментальные данные о влиянии стрихнина на постсинаптическое торможение корковых нейронов противоречивы. По данным ряда авторов [7, 8, 12, 13, 18] внутривенное введение и ионофоретическая аппликация стрихнина не блокирует ТПСП пирамидных нейронов коры. Было показано устранение коркового торможения как при ионофоретической аппликации [24, 25], так и при внутривенном введении стрихнина [9]. Отмечалось [21, 26, 27, 29] замещение ТПСП деполяризационными сдвигами мембранного потенциала (МП) в пирамидных нейронах после нанесения стрихнина на поверхность

коры, что позднее Биско и Куртис [8] интерпретировали как растормаживание возбуждающих интернейронов.

В предыдущей статье [3] нами была показана чувствительность раннего компонента ТПСП пирамидных нейронов коры к непосредственному подведению стрихнина к наружной поверхности нервной клетки.

В данной работе проведено исследование влияния поверхностной и ионофоретической аппликации стрихнина на постсинаптические реакции пирамидных нейронов коры больших полушарий.

### МЕТОДИКА

Опыты проводились в острых условиях на кошках под легким нембуталовым наркозом (25—30 мг/кг). Животные обезживались миорелаксантами и дыхание поддерживалось искусственно. Все операционные раны имбиривались 0,5—2%-ным раствором новокаина. Над сенсомоторной корой делалась трепанационное отверстие в черепной кости диамет-

ром 2—3 мм, и твердая мозговая оболочка удалялась.

Стимуляция поверхности коры осуществлялась трехполюсным электродом [20], а стимуляция глубинных образований (вентро-латеральное (ВЛ) ядро таламуса; пирамидный тракт на уровне продолговатого мозга) — bipolarными константановыми изолированными до кончиков электродами

с межполюсным расстоянием 0,5 мм. Стимуляция производилась прямоугольными импульсами электрического тока стимулятором ЭСУ-2 с радиочастотным выходом.

Внутриклеточная регистрация электрической активности корковых нейронов и одновременная ионофоретическая аппликация 1%-ного раствора нитрата стрихнина осуществлялась так называемыми «спаренными» микроэлектродами [3]. Клеточные потенциалы отводились усилителем постоянного тока МЕЗ-8101 с мостовой схемой, с помощью которой через внутриклеточный микроэлектрод пропускались толчки постоянного тока для измерения входного сопротивления нейронов. Фотографирование сиг-

налов производилось с экрана двухлучевого осциллографа С1-18 фоторегистратором ФОР-2.

При анализе результатов исследования учитывались только неповрежденные нейроны со стабильным мембранным потенциалом (МП) свыше 40 мВ.

Поверхностная аппликация стрихнина производилась гидравлическим микроманипулятором через тонкую полиэтиленовую трубку, расположенную на поверхности коры, вблизи от регистрирующего микроэлектрода.

Результаты обрабатывались математически и их статистическая достоверность оценивалась по критерию Стьюдента.

### РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Был зарегистрирован 31 пирамидный нейрон. Электрическая стимуляция поверхности коры и ВЛ ядра таламуса в корковых нейронах вызывала ВПСП—ТПСП последовательность (ВПСП — возбуждающий постсинаптический потенциал) или ТПСП со средней максимальной амплитудой  $18,63 \pm 1,40$  мВ и длительностью  $195,1 \pm 14,94$  мс ( $n=10$ ).

Изменения реакций нейронов на упомянутые раздражения при поверхностной и ионофоретической аппликации стрихнина были сходными. Полученные эффекты можно было разделить на две группы: в первой отмечалось уменьшение амплитуды раннего компонента ТПСП, во второй — замещение раннего компонента ТПСП ВПСП или ВПСП с потенциалами действия (ПД). При ионофоретической аппликации стрихнина 10 (59%) из 17 пирамидных нейронов вели себя по первому типу (амплитуда раннего компонента ТПСП уменьшалась в среднем на  $57,03 \pm 6,34\%$  по сравнению с фоновой), 5 нейронов (29%) — по второму, а 2 (12%) — не претерпевали каких-либо изменений.

На рис. 1 (А, Б) приведены внутриклеточные записи электрической активности пирамидных нейронов при ионофоретической аппликации стрихнина. Видно уменьшение амплитуды раннего компонента ТПСП, возникающего в пирамидных нейронах на раздражение ВЛ ядра таламуса после воздействия стрихнина. На рис. 1 В

наблюдаются сходные изменения ТПСП пирамидного нейрона после поверхностной аппликации стрихнина, как при раздражении ВЛ ядра

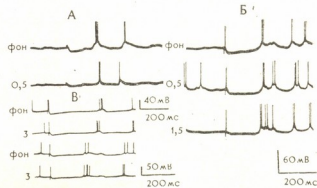


Рис. 1. Реакции пирамидных нейронов на раздражение ВЛ ядра таламуса и прямое раздражение коры при ионофоретической и поверхностной аппликации стрихнина: Фон (здесь и на остальных рисунках) — реакции пирамидных нейронов на раздражение ВЛ ядра таламуса (А, Б, В — первый ряд) и прямое раздражение коры (В — третий ряд). Цифры слева (здесь и на остальных рисунках) — время (мин) после окончания аппликации стрихнина. Ионофоретическая аппликация: А — 50 нА, 1 мин; Б — 50 нА, 0,5 мин; В — поверхностная аппликация. Параметры раздражения: А — 40 В, 0,5 мс; Б — 45 В, 0,5 мс; В — 40 В, 0,5 мс. МР: А — 60 мВ; Б — 50 мВ; В — 65 мВ. Калибровка: А — 40 мВ, 200 мс; Б — 60 мВ, 200 мс, В — 50 мВ, 200 мс

таламуса, так и при прямой корковой стимуляции.

На рис. 2 приведена активность нейронов, в которых поверхностная

(А) и ионофоретическая (Б) аппликация стрихнина вызывает не только уменьшение амплитуды раннего компонента ТПСР, но и появление на его месте ВПСР или ВПСР с ПД.

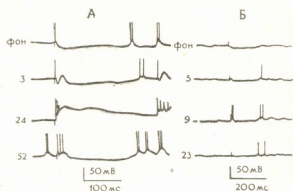


Рис. 2. Реакции пирамидных нейронов на раздражение ВЛ ядра таламуса при ионофоретической и поверхностной аппликации стрихнина: А — поверхностная, Б — ионофоретическая аппликация стрихнина (50 нА, 3 мин и 100 нА, 3 мин на 6-й мин). Параметры раздражения: А — 40 В, 0,5 мс; 20 В, 0,5 мс (52 мин); Б — 35 В, 0,5 мс. Калибровка: А — 50 мВ, 100 мс, Б — 50 мВ, 200 мс

Нужно отметить, что при поверхностной аппликации стрихнина раздражение ВЛ ядра таламуса могло вызывать возникновение так называемого

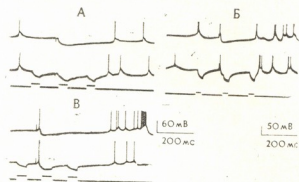


Рис. 3. Измерение входного сопротивления пирамидных нейронов сенсорной коры во время раннего и позднего компонентов ТПСР: А и Б — реакция пирамидных нейронов на раздражение ВЛ ядра таламуса, В — на прямое раздражение поверхности коры. Нижний луч — отметка тестирующего толчка тока. Параметры раздражения: А, Б, В — 40 В, 0,5 мс. Калибровка: А и В — 60 мВ, 200 мс, 0,5 нА; Б — 50 мВ, 200 мс, 1 нА

пароксизмального деполяризационного сдвига (ПДС) МП (рис. 2, А—24). При уменьшении интенсивности стимуляции вдвое вместо ПДС отмечался ВПСР с ПД и поздний компонент ТПСР (рис. 2, А—52).

Проведенные эксперименты показали, что ранний и поздний компоненты ТПСР в пирамидных нейронах коры отличаются по своей чувствительности к стрихнину, что может свидетельствовать о разной природе происхождения этих компонентов.

Подтверждением этого предположения могут служить результаты дополнительных экспериментов с измерением входного сопротивления пирамидных нейронов во время раннего и позднего компонентов ТПСР.

На рис. 3 приведены внутриклеточные записи трех пирамидных нейронов, отвечающих ТПСР на раздражение ВЛ ядра таламуса (А и Б) и прямое раздражение коры (В). Видно, что входное сопротивление нейронов во время раннего компонента ТПСР меньше по сравнению с таковым до возникновения ТПСР и во время позднего компонента ТПСР.

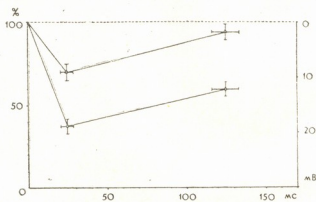


Рис. 4. Графическое выражение изменения входного сопротивления пирамидных нейронов во время раннего и позднего компонентов ТПСР. Ордината: справа — амплитуда ТПСР (мВ); слева — величина входного сопротивления нейронов в % к фоновому значению, принятому за 100%. Абсцисса — время (мс). Треугольники — изменения входного сопротивления, кружки — изменения амплитуды ТПСР

На рис. 4 приведены усредненные данные входного сопротивления 10 пирамидных нейронов во время раннего ( $24,55 \pm 4,07$  мс) и позднего ( $124,77 \pm 8,57$  мс) компонентов ТПСР, а также средние амплитуды ТПСР в этих точках ( $18,63 \pm 1,40$  мВ и  $12,25 \pm 1,20$  мВ). Входное сопротивление во время раннего компонента ТПСР уменьшается в среднем на  $30,00 \pm 5,01\%$ , а во время позднего компонента — на  $6,00 \pm 4,93\%$  по сравнению с его фоновым значением, принятым за 100%. Средняя длительность ТПСР этих



нейронов составляла  $195,1 \pm 14,94$  мс. Во всех случаях достоверность результатов  $p < 0,01$ . Как видно из графика, амплитуда и проводимость во

время раннего компонента ТПСР достоверно больше таковых во время позднего компонента.



## ОБСУЖДЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ

Результаты исследования показали, что ионофоретическая и поверхностная аппликация стрихнина блокирует преимущественно ранний компонент ТПСР пирамидных нейронов сенсомоторной коры.

Сходный эффект ионофоретической и поверхностной аппликации стрихнина на постсинаптическое торможение в корковых нейронах свидетельствует о прямом действии стрихнина на эти нейроны [21, 26, 27, 29] и исключает возможность объяснения полученных данных «растормаживанием» возбуждающих интернейронов [8].

При поверхностном нанесении стрихнина, так же как и при тетаизации коры [2], в пирамидных нейронах наблюдается возникновение ПДС. При ионофоретической аппликации стрихнина [3] и локальной стимуляции отдельных нейронов [2] не удалось вызвать ПДС и, таким образом, подтвердить гипотезу, что ПДС возникает в результате изменения свойств электрически возбудимой мембраны [23]. Наши данные подкрепляют синаптическую гипотезу возникновения ПДС [5].

Оба способа аппликации стрихнина блокируют, в основном, ранний компонент ТПСР, существенно не влияя на его поздний компонент, что свидетельствует о разном генезе этих компонентов.

Литературные данные подтверждают это мнение: внутриклеточная инъекция ионов  $Ca^{2+}$  в пирамидных нейронах [30], в мотонейронах спинного мозга [11, 16] и подъязычного нерва [31], гиперполяризация мотонейронов [11, 16, 31], а также поляризация коры постоянным током [6] вызывают инверсию только раннего компонента ТПСР (в случае пирамидных нейронов) и короткодлительного ТПСР (в случае мотонейронов). Внутривенное введение стрихнина блокирует короткодлительный ТПСР в мотонейронах, не влияя на долгодлительный ТПСР [31].

По мнению одних авторов [1, 6, 31], ранний компонент ТПСР в пирамидных нейронах и короткодлительный ТПСР в мотонейронах генерируются активацией аксо-соматических тормозных синапсов, в то время как поздний компонент ТПСР в пирамидных нейронах и долгодлительный ТПСР в мотонейронах отражают активность аксо-дендритных тормозных синапсов. Приведенные данные измерения входного сопротивления пирамидных нейронов во время раннего и позднего компонентов ТПСР свидетельствуют в пользу этого предположения. Можно допустить, что входное сопротивление нейронов зависит от амплитуды ТПСР: чем больше амплитуда, тем меньше входное сопротивление. Однако входное сопротивление нейронов восстанавливается до фонового значения раньше, чем оканчивается ТПСР. Хотя, нужно подчеркнуть, что не исключена возможность участия электрогенного натриевого насоса в поздних и длительных гиперполяризационных сдвигах МП пирамидных нейронов коры [4].

Относительно механизма действия стрихнина на тормозные процессы в пирамидных нейронах коры существуют различные взгляды [14, 22, 32, 33]. Появление ВПСР на месте раннего компонента ТПСР можно объяснить конкурентным действием стрихнина на субсинаптические рецепторы [10, 15, 28], что приводит к неэффективности тормозного медиатора и выявлению «замаскированного» ВПСР. Предположение о различном происхождении раннего и позднего компонентов ТПСР хорошо объясняет устранение только раннего, но не позднего, компонента ТПСР стрихнином. Если оба эти компонента отражают активность тормозных синапсов (аксо-соматических и аксо-дендритных), можно предположить существование различных тормозных медиаторов в указанных двух типах синапсов.

Два типа изменений ТПСР пирамидных нейронов, наблюдаемых после

666 1288210000  
6. 1288210000  
808 1288210000

17282



ле аппликации стрихнина, вероятно, возникают в результате разной концентрации этого вещества в непосредственной близости от исследуемой клетки: чем больше концентрация, тем больше угнетение раннего компонента ТПСР и вероятность выявления «замаскированного» ВПСР.

Таким образом, можно заключить, что блокирование стрихнином раннего компонента ТПСР пирамидных нейронов коры больших полушарий, вероятно, является основным механизмом действия этого конвульсанта.

### ЛИТЕРАТУРА

1. Воронин Л. Л. Бюлл. эксп. биол. и мед., **II**, 15—19, 1970.
2. Воронин Л. Л. Нейрофизиология, **2**, 601—610, 1970.
3. Кокая М. Г., Лабахуа Т. Ш., Окуджава В. М. Изв. АН ГССР, сер. биол., **7**, 6, 485—492, 1981.
4. Окуджава В. М. В сб.: Нейрофизиологические механизмы эпилепсии, «Медицинереба», Тбилиси, 1980, 51—59.
5. Окуджава В. М. Основные нейрофизиологические механизмы эпилептической активности, «Ганатлеба», Тбилиси, 1969.
6. Пурпура Д. В. В сб.: Физиология и фармакология синаптической передачи, «Наука», Киев, 1973, 113—145.
7. Andersen P., Eccles J. C., L yning J., Voorhoeve P. E. Nature, **200**, 33—35, 1963.
8. Biscoe T. J., Curtis D. R. Nature (Lond.), **214**, 914—915, 1967.
9. Brooks V. B., Asanuma H. Amer. J. Physiol., **208**, 674—681, 1965.
10. Choi D. V., Farb O. H., Fischbach G. D. J. Neurophysiol., **45**, 632—643, 1981.
11. Cook W. A., Duncan C. C., Cangiano A. In: Proceedings of the Inter. Union of Physiol. Sciences. XXV Inter. Congr., M nich, **9**, 119, 1971.
12. Crawford J. M., Curtis D. R., Voorhoeve P. N. Nature, **200**, 845—846, 1963.
13. Crawford J. M., Curtis D. R., Voorhoeve P. E., Wilson V. I. Nature, **200**, 35—36, 1963.
14. Doller H. J., Connor J. D. Fed. Proc., **32**, 792—798, 1973.
15. Dreifuss J. J., Mathews E. R. Brain Res., **45**, 599—603, 1972.
16. Eccles J. C. Ann. N. Y. Acad. Sci., **137**, 473—495, 1966.
17. Game C. J. A., Lodge D. Exp. Brain Res., **23**, 75—84, 1975.
18. Krnjevi  K., Randi  M., Straghan D. W. J. Physiol. (Lond.), **184**, 78—105, 1966.
19. Krnjevi  K., Schwartz S. Exp. Brain Res., **3**, 320—336, 1967.
20. Landau W. M. Electroenceph. clin Neurophysiol., **8**, 445—456, 1956.
21. Lux H. D., Pollen D. A. J. Neurophysiol., **29**, 207—220, 1966.
22. Mann M. D., Towe A. L. Exp. Neurol., **42**, 388—411, 1974.
23. Matsumoto H. Exp. Neurol., **9**, 286—304, 1964.
24. Phillis J. W., York D. H. Nature **216**, 922—923, 1967.
25. Phillis J. W., York D. H. Brain Res., **10**, 297—306, 1968.
26. Pollen D. A., Ajmone-Marsan C. I. J. Neurophysiol., **28**, 342—358, 1965.
27. Pollen D. A., Lux H. D. J. Neurophysiol., **29**, 369—381, 1966.
28. Pycocock C. J., Kervin R. W. Life Sci., **28**, 2679—2686, 1981.
29. Sawa H., Maruyama N., Kaji S., Nakamura K. Jap. J. Physiol., **16**, 126—141, 1966.
30. Stefanis C. In: The Interneuron, M. A. Erazier, Ed UCLA, Forum in Medical Science, Los Angeles, 1969, 497.
31. Takata III., Ogata K. Exp. Neurol., **69**, 299—310, 1980.
32. Towe A. L., Mann M. O. Exp. Neurol., **39**, 395—413, 1973.
33. Wall P. D., McCulloch W. S., Lettvin J. W., Pitts W. H. Epilepsia, **4**, 29—47, 1955.



სტრიქნინის გავლენა კატის სენსომოტორული ქირკის  
პირამიდული ნეირონების პოსტსინაფსურ რეაქციებზე

მ. კოკაია, თ. ლაბახუა, ვ. მ. ოჯავა

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

რ ე ზ ი უ მ ე

მორელაქსანტებით უძრავად მყოფ კატებზე, ნემბუტალის მსუბუქი ნარკოზის მოქმედებისას (25—30 მგ/კგ), მწვავე ცდაში, შესწავლილ იქნა სენსომოტორული ქერქის პირამიდულ ნეირონებში სტრიქნინის იონოფორეზულად შეყვანისა და ზედაპირულად მოქმედების გავლენა თალამუსის ვენტროლატერალური ბირთვისა ან ქერქული ზედაპირის გალიზიანებით გამოწვეულ პოსტსინაფსურ რეაქციებზე. აღმოჩნდა, რომ სტრიქნინი თრგუნავს შემკავებელი პოსტსინაფსური პოტენციალის ადრეულ კომპონენტს, ხოლო მოგვიანო კომპონენტი ამ დროს არსებითად არ იცვლება. შემკავებელი პოსტსინაფსური პოტენციალის ადრეულ და მოგვიანო კომპონენტებზე სტრიქნინის სხვადასხვაგვარი ზე-

მოქმედება და აგრეთვე ამ პოტენციალის ადრეული და მოგვიანო კომპონენტების აღმოცენების დროს სინაპტური მემბრანის ჯამური წინაღობების განსხვავება (აღნიშნული პოტენციალის ადრეული კომპონენტის დროს მემბრანის განვლადობა მნიშვნელოვნად არის გაზრდილი, რასაც ადგილი არა აქვს მოგვიანო კომპონენტის დროს) იმ მოსაზრების სასარგებლოდ მეტყველებს, რომ აღრიცხული პოტენციალის კომპონენტების წარმოშობის მექანიზმი ერთნაირი არ არის.

პირამიდულ ნეირონებში სტრიქნინის მიერ შემკავებელი პოსტსინაფსური პოტენციალის ადრეული კომპონენტის დათრგუნვა, შესაძლოა, საფუძვლად უდევს ამ კონვულსანტის მოქმედების მექანიზმს.

EFFECT OF STRYCHNINE ON POSTSYNAPTIC REACTIONS  
OF PYRAMIDAL NEURONS OF SENSORIMOTOR  
CORTEX IN THE CAT

M. G. KOKAIA, T. SH. LABAKHUA, V. M. OJAJAVA

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

S u m m a r y

On acute cats immobilized by myorelaxants under light nembutal anesthesia (25—30 mg/kg), by the method of intracellular recording of cellular activity, strychnine was shown to block in the pyramidal neurons the early (but not late) component of inhibitory postsynaptic po-

tential (IPSP) caused by stimulation of of ventro-lateral nucleus of thalamus and cortical surface after topical and iontophoretic application of this drug to the recording site. The different origin of early and late components of IPSP in pyramidal neurons is discussed.

УДК 619.8.612.8

ФИЗИОЛОГИЯ ЧЕЛОВЕКА И ЖИВОТНЫХ

## О ПОЗДНЕЙ ОТРИЦАТЕЛЬНОЙ ВОЛНЕ, ВОЗНИКАЮЩЕЙ В СОМАТОСЕНСОРНОЙ КОРЕ ГОЛОВНОГО МОЗГА КОШКИ ПРИ СТИМУЛЯЦИИ ВЕНТРО-ПОСТЕРО-ЛАТЕРАЛЬНОГО ЯДРА ТАЛАМУСА

И. В. Очерашвили

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

Поступила в редакцию 21.09.1981

При стимуляции вентро-постеро-латерального (ВПЛ) ядра таламуса вслед за первичным ответом (ПО) генерируется поздняя отрицательная волна (ПОВ), которая по своим свойствам существенно отличается от начальной фазы ПО. ПОВ, в отличие от начальной фазы ПО, не имеет дипольного отражения на поверхности коры. На этом основании предполагается, что ПОВ отражает активность звездчатых клеток.

Одной из характерных электрических реакций проекционных зон коры больших полушарий мозга является ПО, обычно состоящий из положительной фазы и следующей за ней отрицательной фазы [4, 2]. Известно также, что в средних слоях коры вслед за претерпевшими инверсию фазами ПО возникает добавочное колебание — ПОВ [3, 1, 5]. Этот потенциал возникает в различных проекционных зонах коры мозга при стимуляции соответствующих ядер таламуса [3, 1, 5], при раздражении белого вещества

на границе с корой [5], ретикулярной формации среднего мозга или центромедианного ядра неспецифической системы таламуса, а также при сенсорных раздражениях [3]. ПОВ четко выражена как у препаратов «cegeva isolé» [3, 5], так и у наркотизированных нембуталом животных [1].

Целью настоящего исследования было изучение некоторых свойств ПОВ, возникающей в средних слоях коры задней сигмовидной извилины, которая, как известно, является основной проекционной зоной ВПЛ.

### МЕТОДИКА

Опыты ставились на кошках под глубоким нембуталовым наркозом (60—80 мг/кг, подкожно). Для раздражения ВПЛ использовались биполярные электроды со стеклянной изоляцией. Расстояние между свободными от изоляции кончиками составляло 0,5 мм. Координаты точки раздражения ВПЛ определялись по атласу Джаспера и Аймона-Марсана: А=9; Н=2; L=7. Для стимуляции поверхности коры использовались электроды с межполюсным расстоянием 300 мкм. Раздражение осуществлялось посред-

ством двухканального стимулятора с радиочастотным выходом. Регистрация от поверхности коры производилась серебряным пуговчатым электродом, а из глубины коры — стеклянным электродом, заполненным 1 М NaCl, с диаметром кончика 5—10 мкм. Индифферентный электрод закреплялся в шейной области, в пазухе между кожей и мышцами. Потенциалы усиливались усилителем постоянного или переменного (постоянная времени 1,5 с) тока.

Для устранения пульсаций мозга

кора заливалась нагретой смесью вазелинового масла с воском. Температура коры контролировалась. Глубина

погружения микроэлектрода в кору определялась по показателям микроманипулятора.

**РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ**

На рис. 1 А показана зависимость вызванных ответов от интенсивности стимуляции ВПЛ — варьировалась длительность стимула при неизменном напряжении (50 В). Регистрация потенциалов велась одновременно от поверхности (верхние кривые) и из глубины (1,1 мм) коры (нижние кривые). На первой осциллограмме показаны потенциалы, возникающие при максимальной интенсивности стимула, наносимого на ВПЛ. При этом от поверхности коры регистрировался ПО, за

ствием дипольного отражения ПОВ, так как временные характеристики ПОВ и потенциалов, регистрируемых от поверхности коры, существенно отличаются друг от друга. При определенной интенсивности стимуляции ВПЛ положительное колебание, следующее за ПО, отсутствует, в то время как ПОВ четко выражена.

Опыты с раздражением ВПЛ парными стимулами показали, что ПОВ полностью подавлена, когда тестирующий стимул следует за кондициониру-

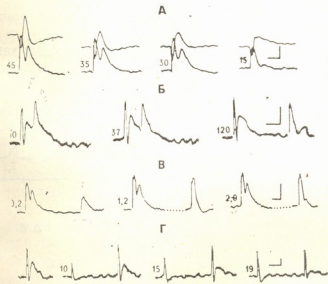


Рис. 1. Потенциалы, регистрируемые от задней сигмовидной извилины при разных условиях стимуляции ВПЛ (усилитель переменного тока). А—разная длительность стимула: верхние кривые—регистрация на поверхности коры; нижние—из глубины 0,95 мм); цифры—длительность стимула в мкс. Б—ответы, вызываемые парными стимулами (регистрация из глубины коры—1,1 мм): цифры—интервал между стимулами в мс. В—то же, что на Б (регистрация из глубины коры—1,0 мм); цифры—интервал между стимулами в с. Г—зависимость ПОВ от интенсивности кондиционирующего стимула (регистрация из глубины коры—0,9 мм); цифры—напряжение кондиционирующего стимула в В. Калибровка: 0,5 мВ; 30 мс

которым следовало положительное колебание, а в глубине — инвертированный ПО и следующая за ним ПОВ. Впадина между начальной фазой ПО и ПОВ, по-видимому, образована инвертированной отрицательной фазой ПО. Как видно из данного рисунка, уменьшение длительности стимула коррелировало с уменьшением амплитуды вызванных ответов. Когда длительность стимула была равна 30 мкс, положительное колебание коры не возникало, а ПОВ была четко выражена. При раздражении ВПЛ стимулом длительностью 15 мкс генерировался только ПО.

Итак, из рис. 1 А следует, что для вызова ПОВ нужна большая интенсивность раздражения, чем для возникновения только ПО, и что ни один из потенциалов, регистрируемых от поверхности коры, не может быть след-

щим с интервалом 30 или 37 мс (рис. 1 Б). При увеличении интервала до 120 мс наблюдалось незначительное ее восстановление. Однако, как это видно из рис. 1 В, в другом случае угнетение ПОВ, обусловленное кондиционирующим стимулом, длилось более чем 2 с. Из рис. 1 Б и В видно также, что при коротких интервалах между стимулами, наряду с полным угнетением ПОВ, начальная фаза ПО была незначительно подавлена, одновременно с этим наблюдалось увеличение ее длительности. При больших интервалах между стимулами начальная фаза ПО была полностью восстановлена в тот момент, когда ПОВ не генерировалась или была значительно подавлена (рис. 1 В).

Таким образом, из рис. 1 Б и В следует, что кондиционирующий стимул в

значительно большей мере влияет на ПОВ, чем на начальную фазу ПО.

Угнетающее влияние кондиционирующего стимула на ПОВ проявлялось и в том случае, когда интенсивность его была недостаточной для вызова ПОВ (рис. 1Г). На первой осциллограмме этого рисунка показан ответ, вызванный при раздражении ВПЛ контрольным стимулом. Из последующих осциллограмм видно, что ПОВ угнеталась, когда ей за 110 мс предшествовал ПО, вызванный раздражением ВПЛ пороговым стимулом. Усиление кондиционирующего стимула приводило к еще большему ослаблению и/или полному устранению ПОВ. Начальная фаза ПО, как и в остальных случаях, менялась незначительно.

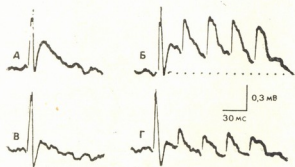


Рис. 2. Эффект возникновения плато при ритмической стимуляции ВПЛ (усилитель постоянного тока): А и В—ответы на раздражение ВПЛ одиначным стимулом; Б и Г—на ритмическое раздражение ВПЛ (30 Гц). Параметры стимулов на А и Б—50 В, 0,3 мс, а на В и Г—40 В, 0,03 мс

Итак, из рис. 1Г видно, что явление угнетения ПОВ наблюдается и в том случае, если ему предшествует ответ, состоящий только из ПО.

На рис. 2Б показано, что при раздражении ВПЛ серией стимулов с частотой 30 Гц возникает плато. Такой эффект, по всей видимости, возможен при условии, если в ответ на одиночный стимул генерируется ПОВ (рис. 2А), ибо когда интенсивность одиночного стимула была недостаточной для генерации ПОВ (рис. 2В), тетаническая стимуляция ВПЛ не приводила к образованию плато (рис. 2Г). Эффект возникновения плато описан также Бонне [3].

На рис. 3 представлены осциллограммы, демонстрирующие эффект тетанического раздражения ВПЛ (в течение 20 с, частотой 50 Гц) на генерацию на-

чальной фазы ПО и ПОВ. На рис. 3А и Б показаны ответы, вызванные до раздражения ВПЛ серией стимулов,

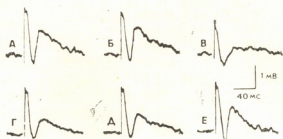


Рис. 3. Посттетаническая депрессия ПО и ПОВ (усилитель переменного тока): А и Б—ответы до тетанизации ВПЛ; В—Е—засствование ответов после тетанизации ВПЛ; В—на 30 с после завершения тетанизации; Г—1 мин; Д—4 мин; Е—19 мин

а на В—потенциал, зарегистрированный на 30 с после завершения тетанизации. Из указанных осциллограмм видно, что в результате тетанизации

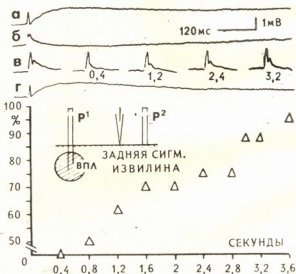


Рис. 4. Влияние прямой стимуляции коры на развитие ПОВ (усилитель постоянного тока): P<sup>1</sup> и P<sup>2</sup>—раздражающие электроды; а и б—потенциалы, регистрируемые на поверхности и из глубины 0,9 мм коры при нанесении стимула P<sup>2</sup>; в—ответ из глубины коры 0,9 мм при изолированной стимуляции через P<sup>1</sup>; цифры—интервал между стимулами P<sup>2</sup> и P<sup>1</sup> в с; г—то же, что на а после завершения опытов; абсцисса—интервал между стимулами P<sup>2</sup> и P<sup>1</sup> в с; ордината—значения ПОВ при данном интервале между стимулами P<sup>2</sup> и P<sup>1</sup> в %

ВПЛ ПОВ была почти полностью угнетена, а начальная фаза ПО ослаблена на 33%, то есть наблюдалось явление посттетанической депрессии. Спустя одну минуту после завершения



тетанизации, наблюдалось частичное восстановление ПОВ; на четвертой минуте ПОВ была меньше исходного значения на 25%, а на девятнадцатой минуте примерно такой же, что и до тетанизации. Начальная фаза ПО при этом была полностью восстановлена. Таким образом, из рис. 3 видно, что тетаническое раздражение ВПЛ приводит к депрессии вызванных ответов и что этот эффект значительно ярче проявляется в отношении ПОВ, чем начальной фазы ПО.

В ряде экспериментов изучалось влияние прямой стимуляции поверхности коры задней сигмовидной извилины на генерацию ПОВ. Схема расположения электродов показана на графике рис. 4. Расстояние между раздражающим электродом, установленным на поверхности коры, и микроэлектродом не превышало 2 мм по горизонтали. В результате нанесения на кору одиночного стимула через электрод  $P^2$  от поверхности коры регистрировался дендритный потенциал, за которым следовал медленный отрицательный потенциал длительностью 2,7 с (рис. 4а). При погружении электрода в глубь коры до уровня, где ПОВ имела наибольшую амплитуду (в данном случае на 0,9 мм), медленный отрицательный потенциал не проявлялся (рис. 4б). На первой осциллограмме рис. 4в показана ПОВ, возникающая при изолированной стимуляции ВПЛ через электрод  $P^1$ . Из последующих осциллограмм видно, что когда стимулу  $P^1$  предшествовал стимул  $P^2$  с интервалом 0,4 с, ПОВ была полностью подавлена. Ослабление влияния прямой стимуляции коры на генерацию

ПОВ наблюдалось в том случае, когда интервал между стимуляцией поверхности коры и ВПЛ был увеличен до 2—3,2 с. Из указанных осциллограмм видно также, что прямая стимуляция коры практически не влияла на развитие начальной фазы ПО. На рис. 4г показан ответ, зарегистрированный после завершения опыта, когда микроэлектрод снова был выведен на поверхность коры. Так как указанный потенциал практически не отличается от потенциала, показанного на рис. 4а, правомерно допустить, что медленный отрицательный потенциал сопутствовал процессу угнетения ПОВ и что временное течение этих двух процессов примерно совпадало.

График, приведенный на рис. 4, построен на основании данных, полученных при проведении аналогичного эксперимента на другом препарате. Из данного графика видно, что восстановление ПОВ зависит от интервала между стимулами  $P^2$  и  $P^1$ . Следует отметить, что и в этих опытах прямая стимуляция коры приводила к возникновению медленного отрицательного потенциала длительностью 3—3,5 с. Значения начальной фазы ПО на графике не приводятся, так как этот потенциал не претерпевал заметных изменений.

Итак, из рис. 4 видно, что прямая стимуляция коры, в результате которой на ее поверхности возникал медленный отрицательный потенциал, существенно подавляла генерацию ПОВ и в значительно меньшей степени оказывала влияние на начальную фазу ПО.

## ОБСУЖДЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ

Из представленных выше данных очевидно, что ПОВ в значительно большей мере, чем начальная фаза ПО, подвержена влиянию таких факторов, как интенсивность раздражения ВПЛ (рис. 1А), кондиционирующий стимул (рис. 1Б и В), тетаническое раздражение ВПЛ (рис. 2), посттетаническая депрессия (рис. 3), прямая стимуляция коры (рис. 4). Этот факт, по-видимому, указывает на разное происхождение ПО и ПОВ, несмотря на то, что они генерируются в одной и той же области коры [1].

Сравнительно высокая лабильность ПОВ позволяет предположить, что этот потенциал может оказаться более чувствительным индикатором изменений функционального состояния коры, чем ПО.

По мнению Бонне [3] ПОВ возникает в результате прихода в кору асинхронной импульсации по неспецифическим таламо-кортикальным волокнам. То обстоятельство, что ПОВ четко выражена у кошек, наркотизированных большой дозой нембутала, который, как известно, подавляет по-

лисиноптическую передачу в неспецифической таламо-кортикальной системе, позволяет допустить, что генерация этого потенциала может происходить в результате поступления афферентной импульсации по специфическим волокнам, связывающим ВПГ с задней сигмовидной извилиной, без вовлечения в эту реакцию неспецифической системы таламуса. Показано, что большинство афферентных волокон, идущих от релейных ядер таламуса к проекционным зонам коры, непосредственно контактирует с базальными дендритами пирамидных клеток и с дендритами звездчатых клеток средних слоев коры. Причем установлено, что основными элементами коры, воспринимающими афферентацию, являются звездчатые клетки [9].

Послойная регистрация поля ПОВ показала, что этот потенциал, в отличие от начальной фазы ПО, не имеет дипольного отражения на поверхности коры [1]. На этом основании было высказано предположение, что ПОВ генерируется звездчатыми клетками средних слоев коры, так как известно, что эти клетки, при их возбуждении, образуют поле замкнутого типа [2]. В пользу такого предположения указывают данные, полученные при сопоставлении постсинаптических потенциалов пирамидных и звездчатых клеток с потенциалами, регистрируемыми от поверхности коры [6].

Из общего количества звездчатых клеток 60% составляют мультиполярные, а 20% — двухвенчиковые клетки [7]. Строение этих типов звездчатых клеток наиболее подходящее для образования, при их возбуждении, электрического поля замкнутого типа, так как дендриты этих клеток оканчиваются в средних слоях коры и не доходят до первого слоя.

На первой осциллограмме рис. 1 А показано, что при определенных условиях на поверхности коры вслед за ПО возникает положительное колебание. В опытах Бонне возникал аналогичный потенциал, который, по ее мнению, является дипольным отражением ПОВ [3]. Однако факты, показанные на рис. 1 А, противоречат такому представлению, так как эти потенциалы имеют различное временное течение

и по-разному реагируют на изменение интенсивности раздражения ВПГ. Исходя из морфологических данных, можно предположить, что положительное колебание, регистрируемое от поверхности коры, отражает активность биполярных клеток средних слоев коры, дендриты которых, в отличие от дендритов мультиполярных и двухвенчиковых клеток, оканчиваются в первом слое коры, вследствие чего эти клетки способны образовывать диполи по поперечнику коры при активации их сомы и базальных дендритов. Следует отметить, что в количественном отношении биполярные клетки значительно уступают мультиполярным и двухвенчиковым клеткам, взятым вместе (80%) и составляют 20% от общего количества звездчатых клеток [7].

На описанных выше осциллограммах видно, что ПОВ возникает позже, чем ПО. Если исходить из положения, что ПОВ отражает активность звездчатых клеток, а ПО — преимущественно пирамидных, следует допустить, что звездчатые клетки, в ответ на стимуляцию ВПГ, вовлекаются в реакцию позже пирамидных клеток. В связи с этим следует отметить, что были обнаружены нейроны, которые, в ответ на стимуляцию релейного вентролатерального ядра таламуса, возбуждались с латентным периодом 10—50 мс [4]. Одна из причин различия в латентных периодах ПО и ПОВ может быть обусловлена тем обстоятельством, что звездчатые клетки средних слоев проекционной зоны коры получают импульсы из таламуса по афферентным волокнам, диаметр которых меньше диаметра волокон, образующих контакты с пирамидными клетками. Расчеты показали, что в связи с различием диаметра аксонов скорость проведения импульсов по волокнам, иннервирующим звездчатые клетки (8—20 м/с), примерно в два раза меньше скорости проведения импульсов по волокнам, контактирующим с пирамидными клетками (15—40 м/с) [8].

Эти данные, вероятно, позволяют объяснить также причину различия в порогах ПО и ПОВ, так как известно, что для вызова возбуждения в тонких аксонах требуется большая сила раздражения, чем в аксонах с более крупным диаметром.

В заключение следует отметить, что для выяснения природы эффектов, описанных в данном исследовании,

требуются дополнительные опыты применением микроэлектродной техники отведения нейронной активности.

### ЛИТЕРАТУРА

1. Очерашвили И. В. Сообщения АН ГССР, 100, 3, 657—660, 1980.
2. Ройтбак А. И. Общая физиология нервной системы. Сер.: Руководство по физиологии, «Наука», Л., 1969, 455—464.
3. Bonnet V. Arch. Internat. Physiol. et Biochim., 69, 5, 609—616, 1961.
4. Li C. L., Cullen C., Jasper H. H. J. Neurophysiol., 19, 2, 111—130, 1956.
5. Morin D., Steriade M. Brain Res., 205, 49—66, 1981.
6. Purpura D. P., Shofer R. J., Musgrave F. S. J. Neurophysiol., 27, 2, 133—151, 1964.
7. Feldman M. L., Peters A. J. Comp. Neurol., 179, 4, 761—794, 1978.
8. Fester D., Le Vay S. J. Comp. Neurol., 182, 4, 923—944, 1978.
9. White E. L. Brain Res., 1, 3, 275—311, 1979.

კატის თალამუსის ვენტრო-პოსტერო-ლამინალური ბირთვის გაღიზიანებით გამოწვეული სომატოსენსორული ძირქის მოგვიანო უარყოფითი ტალღის ბუნების შესახებ

### ი. ოჩერაშვილი

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

### რეზიუმე

ცდები ტარდებოდა დანარკოზებულ კატებზე. სომატოსენსორული ქერქის შუა შრეებში აღირიცხებოდა პირველადი პასუხი, რომელსაც თან სდევდა მოგვიანო უარყოფითი ტალღა. მოგვიანო უარყოფითი ტალღის თვისებები ძირითადად გან-

სხვავდებოდა პირველადი პასუხის თვისებებისგან. შეიძლება ვივარაუდოთ, რომ მოგვიანო უარყოფითი ტალღა აღმოცენდება ვარსკვლავისებური უჯრედების აგზნების შედეგად.

## ON DELAYED NEGATIVE WAVE OF THE SOMATOSENSORY CORTEX EVOKED BY THE STIMULATION OF THE THALAMIC VPL NUCLEUS IN THE CAT

I. V. CCHERASHVILI

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

### Summary

Acute experiments were carried out on cats under nembutal anaesthesia. In the middle layers of the somatosensory cortex the primary response is followed

by delayed negative wave (DNW). Some peculiarities of DNW are described. It is suggested that DNW reflects the excitation of the cortical stellate cells.

УДК 611.81:539.3:616.831—005.98

ФИЗИОЛОГИЯ ЧЕЛОВЕКА И ЖИВОТНЫХ

## АЛГОРИТМЫ ОБРАБОТКИ ДАННЫХ ПРИЖИЗНЕННОГО ОПРЕДЕЛЕНИЯ МЕХАНИЧЕСКИХ СВОЙСТВ ГОЛОВНОГО МОЗГА

М. Л. Иткис

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

Поступила в редакцию 27.11.1981

Механические свойства головного мозга являются одним из важнейших факторов, определяющих обмен воды между его кровеносными сосудами и тканью, и, таким образом, играют значительную роль в процессе развития отека. Для изучения прижизненных изменений механических свойств мозга были разработаны две методики, отличающиеся способом приложения нагрузки. Внутреннюю нагрузку создавали повышением внутрисосудистого давления, внешней — вдавливанием гладкой жесткой сферы в ткань мозга. Специально разработанные алгоритмы позволяли определять по экспериментальным кривым величины некоторых параметров, отражающих механические свойства мозга.

Механические свойства ткани головного мозга являются одним из факторов, определяющих обмен воды через сосудистые стенки. Однако изменения этих свойств в процессе развития отека мозга практически не изучены, хотя в последнее время появились работы, посвященные этому вопросу [7].

При исследованиях патофизиологических механизмов развития отека мозга, на протяжении многих лет, проводящихся в нашей лаборатории, были разработаны две методики, позволяющие изучать некоторые механические свойства мозга прижизненно [2, 4, 9, 10, 11].

**1. Методика определения механических свойств ткани головного мозга при повышении внутрисосудистого давления [10].**

Дозированное повышение внутрисосудистого давления производили изменением уровня напорного резервуара, соединенного полиэтиленовым катетером максимально возможного диаметра с венозной системой животного. Венозное давление в мозгу линейно зависит от общего венозного давления [10], и потому при каждом повышении последнего наступало как уве-

личение внутрисосудистого давления, так и увеличение кровенаполнения головного мозга, что приводило к увеличению его общего объема. Об измене-

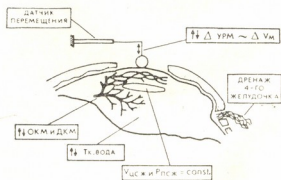


Рис 1. Устройство для определения уровня поверхности мозга:  $\Delta U_{PM}$ —изменения уровня мозга в трепанационном отверстии;  $\Delta V_m$ —изменения объема мозга; ОКМ—объем крови в мозгу; ЛКМ—давление крови в мозгу;  $V_{цсж}$ —объем цереброспинальной жидкости;  $P_{дсж}$ —давление цереброспинальной жидкости; Тк. вода—количество воды в ткани мозга

ния объема мы судили на основании линейно связанного с ним изменения уровня поверхности мозга в трепанационном отверстии, которое регистрировали с помощью тензометрического



датчика перемещения (рис. 1) [13].  
Формы зависимостей уровня поверхности  
мозга от общего венозного давле-  
ния позволяли судить о механиче-  
ских свойствах мозга.

О деформируемости (D) — свойстве,  
отражающем способность мозга  
изменять свою форму под действием  
данной механической нагрузки, суди-  
ли по степени влияния изменений об-  
щего венозного давления на уровень  
поверхности мозга. Другими словами,  
деформируемость мозга определяли  
по усредненному тангенсу угла накло-  
на (коэффициенту регрессии) зависи-  
мости уровня поверхности мозга от  
общего венозного давления (рис. 2).

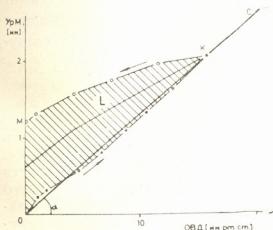


Рис. 2 Кривая зависимости УрМ от ОВД и алгоритм определения механических свойств при использовании методики внутренней нагрузки: СС—линия регрессии;  $\alpha$ —угол наклона линии регрессии;  $\text{tg } \alpha$ —коэффициент регрессии, по которому судили о деформируемости мозга (D)

Другим параметром, который позво-  
лял судить об изменениях механиче-  
ских свойств мозга, был гистерезис  
(величина площади гистерезиса), ко-  
торый также определяли на графике  
зависимости уровня поверхности моз-  
га от общего венозного давления. Что-  
бы иметь возможность сравнивать ве-  
личины площадей гистерезиса в раз-  
личных пробах, вне зависимости от  
степени повышения общего венозного  
давления, вычисляли относительную  
величину гистерезиса (НА). Она была  
численно равной отношению площади  
гистерезиса ( $S_{\text{гист}}$ ) к длине лома-  
ной (L), проведенной из точки пере-  
гиба кривой (при максимальном об-  
щем венозном давлении) примерно че-

рез середину замкнутой фигуры к оси  
ординат (рис. 2):

$$НА = \frac{S_{\text{гист}}}{L}$$

Преимущество методики нагрузки  
мозга повышением внутрисосудисто-  
го давления заключается в том, что с  
ее помощью можно определить меха-  
нические свойства самой ткани мозга.  
Изменения же объема и давления  
крови в сосудах мозга вносят в изме-  
ряемые величины минимальные по-  
грешности, так как увеличение давле-  
ния является фактором, создающим  
нагрузку. Недостатком данной мето-  
дики является то, что повышение ве-  
нозного давления в мозгу при каждом  
тесте создает в нем венозный застой  
с сопутствующими гипоксией и гипер-  
капнией, а увеличение кровенаполне-  
ния и внутрисосудистого давления уси-  
ливает фильтрацию жидкости в ткань  
и, поэтому, при повторных пробах из-  
менения в мозгу часто приводят к раз-  
витию в нем стойкого отека. Однако  
эти условия были вполне приемлемы  
для изучения изменений механических  
свойств в процессе развития отека [8,  
9, 13, 14, 15].

## 2. Методика определения механиче- ских свойств мозга при внешней сту- пенчатой нагрузке [6, 7].

При разработке этой методики [3]  
исходили из того, что головной мозг  
можно приближенно рассматривать  
как вязкоупругий материал, механиче-  
ческие свойства которого объединяют  
свойства твердого тела и вязкой жид-  
кости. Чтобы иметь возможность опи-  
сать свойства такого материала с по-  
мощью линейной теории вязкоупруго-  
сти, величину нагрузки подобрали экс-  
периментально таким образом, чтобы  
деформации были малы и пропорци-  
ональны нагрузкам, их вызывающим.  
Кроме того, мы считали, что микро-  
структура головного мозга, как мате-  
риала, механически эквивалентна си-  
стеме вязких и упругих элементов—  
пружин и демпферов. Размеры датчи-  
ка были выбраны таким образом, что  
величиной неоднородностей можно  
было пренебречь и головной мозг счи-  
тать однородным.

Исходя из перечисленных выше ус-  
ловий, для изучения вязкоупругих  
свойств мозга был выбран способ оп-  
ределения ползучести при вдавлива-

нии в него гладкой жесткой сферы [1]. Было показано [12], что при действии ступенчатой нагрузки на образцы ткани мозга сначала наблюдается упругая реакция мозга, затем запаздывающая вязкоупругая реакция, и, наконец, реакция линейного вязкого течения. Такое поведение можно описать линейной четырехпараметрической моделью, состоящей из последовательно соединенных узлов Максвелла и Кельвина-Фойхта. Применяя эту модель для случая погружения жесткой сферы  $P$  в головной мозг после широкой трепанации черепа, имеем:

$$a^3(t-t_1) = \frac{3R\Pi_0}{8} \left[ \frac{1}{E_{1s}} + \frac{1}{\eta_{1s}}(t-t_1) + \frac{1}{E_{2s}} \left( 1 - e^{-\frac{t-t_1}{\tau}} \right) \right], \quad (1)$$

где

- $t_1$  — момент приложения нагрузки;
- $E_{1s}$  — мгновенный модуль упругости;
- $\eta_{1s}$  — коэффициент вязкости при установившемся течении;
- $E_{2s}$  — модуль упругости при упругом последствии;
- $\tau$  — время запаздывания;
- $\eta_{2s}$  — коэффициент вязкости для узла Кельвина-Фойхта;
- $R$  — радиус сферы;
- $a$  — радиус контакта сферы с мозгом;
- $\Pi_0$  — нагрузка.

Устройство для определения ползучести мозга (рис. 3) под действием стандартной ступенчатой нагрузки отличалось от устройства для регистрации уровня поверхности мозга (с его помощью производили определение механических свойств мозга повышением внутрисосудистого давления) тем, что над сферической головкой (1) тензометрического датчика, устанавливаемой на поверхности головного мозга (2), открытого после трепанации черепа, укрепляли грузик (3), способный периодически в течение заданного времени давить через сферическую головку (1) на мозг. На самопишущем приборе (4) регистрировали кривую погружения сферы в мозг (при действии нагрузки) и его восстановления (после снятия нагрузки). Аналитически кривая восстановле-

ния, полученная из уравнения (1) с применением принципа суперпозиции, имеет следующий вид:

$$a^3(t-t_2) = \frac{3R\Pi_0}{8} \left[ \frac{1}{\eta_{1s}}(t_2-t_1) + \frac{1}{E_{2s}} \left( 1 - e^{-\frac{t_2-t_1}{\tau}} \right) e^{-\frac{t-t_2}{\tau}} \right]. \quad (2)$$

Здесь:  $t_2$  — момент снятия нагрузки.

Величиной  $e^{-\frac{t_2-t_1}{\tau}}$  можно пренебречь, так как  $\tau \ll t_2 - t_1$ . Из геометрических соображений видно, что регистрируемая на самописце глубина погружения ( $h$ ) связана с радиусом контакта сферы с мозгом ( $a$ ) из уравнений (1, 2) следующим образом (рис. 3):

$$a(t) = \sqrt{(2R-h)h};$$

$a < 0$  не имеет смысла.

В настоящих опытах применялись датчики радиусом  $P=2,9-3,7$  мм. Уменьшение радиуса может привести к увеличению травматичности, а его увеличение было ограничено размерами трепанационного отверстия. Величина силы давления сферы, подобранная экспериментально, чтобы сохранились условия пропорциональности деформаций вызывающим их нагрузкам, равнялась  $\Pi=0,053$  н.

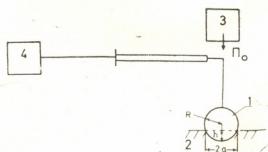


Рис. 3. Устройство для определения механических свойств головного мозга приложением внешней нагрузки: 1—сфера; 2—головной мозг; 3—грузик; 4—регистратор;  $R$ —радиус сферы;  $h$ —глубина погружения сферы в мозг;  $a$ —радиус площади контакта сферы с мозгом

Однако анализ кривых ползучести, полученных в экспериментах на живом мозге, показал, что четырехпараметрическая модель является довольно грубым приближением. Чтобы уменьшить ошибки, появляющиеся при анализе

кривых с помощью четырехпараметрической модели, мы использовали относительные показатели. Замена относительными показателями абсолютных величин диктуется также большой вариабельностью последних у отдельных животных.

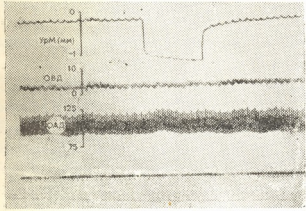


Рис. 4. Пример кривой, полученной методикой внешней нагрузки в одном из опытов: ОАД—общее артериальное давление; ОБД—общее венозное давление; на нижней шкале—время в с

Полученная в экспериментах кривая (рис. 4) обрабатывалась при помощи специального алгоритма, позволяющего определять следующие относительные показатели, отражающие механические свойства мозга. По кривой, полученной в процессе вдавливания сферы, определяли **показатель текучести**

$$\text{мозга } C = \frac{h_b}{h_m} \cdot 100\%.$$

Для этого на участке погружения сферы в мозг измеряли глубину максимального погружения  $h_m$  (рис. 5). Участок кривой в области линейного вязкого течения апроксимировали прямой, проводя ее из точки максимальной деформации (в конце фазы нагружения) до момента приложения нагрузки, и определяли  $h_b$ —глубину погружения сферы на участке линейного вязкого течения (рис. 5). Эту величину назвали текучестью мозга, так как она обратно пропорциональна его вязкости  $h_b =$

$$= k \frac{1}{\eta} \Delta t, \text{ где } \Delta t \text{—время нагружения,}$$

$k$ —коэффициент, зависящий от силы давления  $P_0$  и радиуса  $R$  (уравнение 1, при условии, что  $t \gg \tau$ ). Вполне очевидно, что  $\eta = ctg \alpha$ , где  $\alpha$ —угол наклона прямой, которую мы провели по

центру тяжести участка линейного вязкого течения.

**Податливость мозга Н** мы определяли как разность величины максимального погружения  $h_m$  и погружения при линейном вязком течении

$$H = h_m - h_b = h_{ypr} + h_{b. ypr} = k_1 (I_{ypr} + I_{b. ypr}).$$

Вполне очевидно, что эта величина, равная сумме величин погружений при мгновенной и запаздывающей реакции

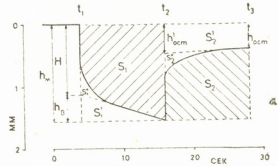


Рис. 5. Алгоритм определения механических свойств мозга по кривой внешней нагрузки:  $t_1$ —момент приложения,  $t_2$ —момент снятия нагрузки;  $t_3$ —конечный момент пробы;  $h_m$ —глубина максимального погружения,  $h_b$ —при установившемся вязком течении;  $H$ —при мгновенной и запаздывающей деформации мозга;  $S_1$  и  $S_2$ —площадь под кривой погружения сферы в мозг и восстановления мозга соответственно;  $S'_1, S'_2, S_1^x, S_2^x, h'_{ост.}, h'_{ост.}$ —вспомогательные величины для определения показателя гистерезиса. На оси абсцисс—время в с, ординат—погружение в мм

мозга, пропорциональна сумме величин мгновенной  $I_{ypr}$  и запаздывающей податливостей  $I_{b. ypr}$ . Эта величина, была названа **суммарной податливостью** или просто **податливостью**. Термин «податливость», так же как «деформируемость», отражает одно и то же свойство мозга изменять свою форму под действием данной механической нагрузки. Однако, поскольку в каждом случае нужно учитывать о какой методике идет речь, термин «деформируемость» ( $D$ ) применяется нами при описании свойства мозга, выявленного методикой нагрузки, повышением внутрисосудистого давления, а термин «податливость» ( $H$ )—при определении соответствующего свойства методикой внешней нагрузки. Далее, на кривой восстановления

мозга откладывали отрезок времени, равный времени нагрузки

$$\Delta t = t_2 - t_1 = t_3 - t_2 = 12.$$

Определяли  $h_{ост}$  — величину остаточной деформации в конечный момент фазы восстановления  $t_3$ . Из точки, соответствующей этому моменту  $t_3$ , по центру тяжести кривой восстановления проводили прямую, продолжая ее до момента снятия нагрузки  $t_2$ , и по ней определяли вспомогательную величину  $h'_{ост}$  в момент  $t_2$  (см. рис. 5).

Показатель гистерезиса численно равен отношению площади гистерезиса  $S_{гист}$  (разность площадей под кривыми нагрузки и разгрузки  $S_{гист} = S_1 - S_2$ ) к площади всей пробы при нагрузке (в %).

$$S = \frac{S_1 - S_2}{S_1} \cdot 100\% \quad (5)$$

Из рис. 5 видно, что

$$S_1 = h_m \Delta t - (S'_1 + S^x_1);$$

$$S_2 = h_m \Delta t - (S^x_2 + S'_2),$$

$$\text{где } S_1 = h_m \frac{\Delta t}{2}; \quad S_2 = \frac{h_{ост} + h'_{ост}}{2} \Delta t;$$

$$\Delta t = t_2 - t_1 = t_3 - t_2.$$

$$\begin{aligned} \text{Отсюда } S &= \frac{S_1 - S_2}{S_1} \cdot 100\% = \\ &= \left( \frac{S'_2 - S'_1}{S_1} + \frac{S^x_2 - S^x_1}{S_1} \right) \cdot 100\%. \end{aligned}$$

## ЛИТЕРАТУРА

1. Бленд Д. Теория линейной вязкоупругости, «Мир», М., 1965.
2. Иткис М. Л., Мchedlishvili Г. И. Механика композитных материалов, 6, 1094—1099, 1979.
3. Мейз Дж. Теория и задачи механики сплошных сред, «Мир», М., 1974.
4. Мchedlishvili Г. И., Иткис М. Л., Сихарулидзе Н. В. Механика композитных материалов, 5, 878—882, 1981.
5. Мchedlishvili Г. И., Николаишвили Л. С., Иткис М. Л. *Вопр. нейрохир.*, 4, 11—15, 1978.
6. Мchedlishvili Г. И., Сихарулидзе Н. В., Иткис М. Л., Янушевский С. *Бюлл. эксп. биол. и мед.*, 89, 14—16, 1980.
7. Пальцев Е. И., Сировский Э. Б. В кн.: Биомеханика (Тр. Рижского НИИ

Однако из рисунка также видно, что  $S^x_2 - S^x_1 \ll S_1$  и, следовательно,

$$\frac{S^x_2 - S^x_1}{S_1} \approx 0. \text{ Подставляя в (5) значения } S'_1, S'_2, S^x_1, \text{ получаем:}$$

$$S = \frac{\Delta t (h_{ост} + h'_{ост} - h_m)}{\Delta t \cdot (2h_m - h_m) - S^x_1} \cdot 100\%.$$

Но  $S^x_1$  можно пренебречь, так как  $S^x_1 \ll S'_1$ .

Отсюда окончательно получаем

$$S = \frac{h_{ост} + h'_{ост} - h_m}{2h_m - h_m} \cdot 100\%.$$

Основным недостатком методики внешней нагрузки является то, что она не непрерывна и пробы производятся периодически. Однако с помощью этой методики были получены важные результаты, отражающие изменения механических свойств под влиянием циркуляторных факторов [4].

Применение методики внешней нагрузки позволило также установить основные закономерности изменений механических свойств в процессе развития отека, благодаря чему были выявлены и объективные критерии развития отека головного мозга.

Методика внешней нагрузки может послужить основой для разработки способов выявления признаков склонности мозга к развитию отека, которые можно будет применять в нейрохирургической практике.

8. Gallord I. E., McElhanev J. H. J. *Biomechanics*, 3, 211—221, 1970.
9. Mchedlishvili G. I., Mossakowski M. I., Itkis M. L., Sikharulidze N. V., Janushewski S. *Neuropat. Pol.*, 18, 4, 544—554, 1980.
10. Mchedlishvili G. I., Nikolaishvili L. S., Itkis M. L. *Stroke*, 10, 52—57, 1979.
11. Mchedlishvili G. I., Nikolaishvili L. S., Itkis M. L. *Neuropat. Pol.*, 17, 2, 165—177, 1979.
12. McElhanev J. H., Melvin J. W., Roberts V. L., Portnoy H. D. In: *Perspectives in Biomedical Engineering* (Ed R. M. Kenedy), University of Strathclyde, Macmillan, 1973, 215—222.



ცოცხალი თავის ტვინის მექანიკურ თვისებათა განსაზღვრის  
 უმეღებთა დაშუშავების ალგორითმები

ა. იტკისი

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

რ ე ზ ი უ მ ე

თავის ტვინის მექანიკური თვისებები  
 სისხლძარღვებსა და ქსოვილს შორის  
 წყლის ცვლის ერთ-ერთი ძირითადი გან-  
 მსაზღვრელი ფაქტორია. ნაშრონში აღწე-  
 რილია მეთოდები, რომლებიც საშუალებას  
 იძლევიან განესაზღვროთ ეს თვისებები  
 ცოცხალ თავის ტვინში. მეთოდები ერთ-  
 მანეთისაგან განსხვავდებიან იმით, რომ  
 განსაზღვრა ხდება თავის ტვინის ქსოვი-  
 ლის სხვადასხვა ოდენობით დატვირთვის  
 პირობებში. შინაგანი დატვირთვის გაზრ-  
 და ხდება სისხლძარღვთა შიდა წნევის აწე-  
 ვით, ხოლო გარეგანი დატვირთვა — ტვი-  
 ნის ქსოვილზე გლუვი მკვრივი სფეროს  
 (დიამეტრი 7 მმ) ზედდაწოლით, ვინაიდან  
 ტვინის მასა შეიძლება საკმარისი სიზუს-  
 ტით ჩაითვალოს დრეკად-ბლანტ ნივთიე-  
 რებად. შინაგანი დატვირთვის მეთოდისა,  
 სისტემური ვენური წნევის აწევის გამო,  
 საშუალებას იძლევა შევაფასოთ (შედა-  
 რებით ერთეულებში) ტვინის დეფორმი-

რების ხარისხი, ხოლო ვენური წნევის  
 შემცირებისას შესაძლებელი ხდება გაიზო-  
 მოს წარმოქმნილი ჰისტერეზისის ფართო-  
 ბი. მიუხედავად იმისა, რომ სისხლძარღვ-  
 თა შიდა წნევის გაზრდა სითხის ფილტ-  
 რაციას ჰზრდის და ხელს უწყობს შეშუ-  
 პების განვითარებას, შინაგანი დატვირთ-  
 ვის მეთოდის გამოყენებით მაინც მიღე-  
 ბულია საინტერესო შედეგები, რომლებიც  
 ასახავენ მექანიკური თვისებების ცვლი-  
 ლებათა დინამიკას შეშუპების განვითარ-  
 ების დროს. სპეციალურად შეშუპებულ-  
 ლი ალგორითმი საშუალებას იძლევა შე-  
 ვასდეს ტვინის ქსოვილის მოქნილობა, მი-  
 სი თხევადობის ხარისხი და ჰისტერეზისი  
 ტვინის შინაგანი ციკლური დატვირთვა-  
 განტვირთვის ცდებში. შინაგანი დატვირ-  
 თვის მეთოდის გამოყენება საშუალებას  
 იძლევა გამოვლინდეს ქსოვილში მიმდინარე  
 ადრეული ცვლილებები და ტვინის  
 ქერქში სითხის რაოდენობის ზრდა.

ALGORITHMS OF CURVE TREATMENT AND COMPARATIVE ESTIMATION  
 OF THE RESULTS OF *IN VIVO* DETERMINATION OF THE BRAIN  
 MECHANICAL PROPERTIES

M. L. ITKIS

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

Summary

Mechanical properties of the brain appear to be one of the significant factors determining water exchange between its blood vessels and tissue. The offered methods of determination of changes in these properties *in vivo* differ in the technique of loading of brain tissue. Internal load-

ing is produced by the increasing of intravascular pressure, while the external one is produced by the pressing of smooth rigid sphere ( $\varnothing = 7$  mm.) into the brain tissue which is considered to be the viscoelastic material. Methods of internal loading with the increase of systemic ve-

nous pressure allow to estimate (in relative values) deformation of the brain and the area of hysteresis resulting in the subsequent decrease of SVP. Though the increase of intravascular pressure leads to enhancement of fluid filtration promoting edema development the methods of internal loading yield important results reflecting the dynamics of the changes

in mechanical properties in the process of its development. A special algorithm allows to estimate compliance, fluidity and hysteresis in tests with internal cyclic loading—unloading of the brain. The use of the method of internal loading allows to reveal the early changes taking place in the tissue and the increase of the amount of fluid in the cortex.

УДК 576.31:576.311.347:616.127.002

МОРФОЛОГИЯ

## УЛЬТРАСТРУКТУРНЫЕ ИЗМЕНЕНИЯ КАРДИОМИОЦИТОВ И СОКРАТИТЕЛЬНЫЕ СВОЙСТВА МИТОХОНДРИЙ ПРИ ТОКСИКО-АЛЛЕРГИЧЕСКОМ МИОКАРДИТЕ

Н. В. Карсанов, Л. Е. Гогишвили, И. Л. Лацабидзе, Е. В. Селихова

*Республиканский научно-исследовательский центр медицинской биофизики МЗ ГССР, Тбилиси*

Поступила в редакцию 25.01.1982

В опытах на кроликах показано, что при токсико-аллергическом миокардите (ТАМ) одновременно повреждается ультраструктура всех трех систем кардиомиоцита, ответственных за акт сокращение-расслабление — система сопряжения возбуждения с сокращением, а также регулирования силы сокращения (сарколемма, Т-система, саркоплазматический ретикулум), система энергообеспечения и сократительный аппарат миокардиальной клетки. Наибольшая интенсивность повреждения отмечается на десятый день развития ТАМ и имеет как в пределах ткани, так и одной клетки мозаичный характер. К тридцатому дню происходит почти полное восстановление ультраструктур и количества гликогена (почти полностью исчезающего к десятому дню болезни); имеет место гипертрофия и гиперплазия органелл кардиомиоцита.

Сократительная способность митохондрий существенно снижается к десятому и полностью восстанавливается к тридцатому дню заболевания.

В первых двух сообщениях [3, 7] показано, что недостаточность сократительной функции сердца при ТАМ развивается в результате нарушения функционирования всех трех систем миокардиальной клетки, осуществляющих акт сокращение-расслабление: системы контрактильных белков, системы энергетического обеспечения сократительного аппарата и системы пуска и регулирования силы сокращения миокардиальной клетки.

Настоящее исследование предпринято с целью выяснения ультраструктурных изменений, происходящих в этих системах при ТАМ в динамике его развития (частично они описаны и ранее [4]), а также сократительной способности митохондрий, тесно связанной с транспортом электронов, синтезом АТФ путем окислительного фосфорилирования [23, 24, 25].

### МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ

Работа проведена на 17 кроликах породы шиншилла, обоего пола, массой 2,5—3,5 кг. Изучена группа интактных животных (8 кроликов) и животных с 3-, 10- и 30-дневным ТАМ (по 3 животных в каждой группе), ссылка на методику воспроизведения которого дана в первом сообщении [3].

Образчики миокарда для электронномикроскопических исследова-

ний брали из одной и той же области левого желудочка бьющегося сердца. Фиксировали и обрабатывали их по общепринятой методике. Ультратонкие срезы готовили на ультратоме III типа 8800 LKB и исследовали на электронном микроскопе «ДЖЕМ-100Б».

Коэффициент энергетической эффективности митохондрий (КЭЭМ) определяли по методике В. С. Па-

укова, Т. А. Казанской и В. А. Фролова [14].

Сократительную способность глицеринизированных митохондрий изучали по методике Наказава [27].

### РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

**Ультраструктура миокардиальной клетки.** Повреждение миокарда при ТАМ даже в пределах одного миоцита носит мозаичный характер. В участках поражения, в случае трехдневной продолжительности заболевания, в левом желудочке наблюдается выраженный внутриклеточный отек.

При этом светорассеяние регистрировали при 520 нм на спеколе (фирмы Карл Цейсс, Иена) с приставкой ТК для определения мутности и флуоресценции под углом 45°.

Количество митохондрий в электронограмме заметно снижено (таблица). Плотность прилегания их друг к другу и к миофибриллам нарушена. Во многих участках митохондрии умеренно набухшие. Матрикс части митохондрий неравномерно просветлен, а количество крист их уменьше-

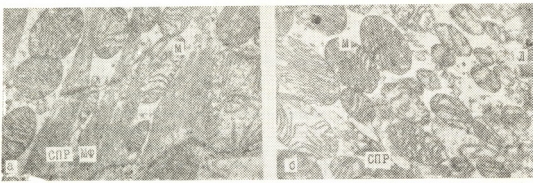


Рис. 1. Электронограммы левого желудочка сердца кролика при 3-дневном ТАМ (x 17.500): М — митохондрии, МФ — миофибриллы, СП — саркоплазматический ретикулум, Л — липиды

Сарколемма кардиомиоцитов несколько набухшая, но без нарушения целостности. Пиноцитозная активность ее снижена. Полость вставочных дисков несколько расширена, а складчатость их сглажена.

Элементы Т-системы перерастянуты как на уровне вставочного диска, так и Z-пластинок.

Саркоплазматический ретикулум расширен (рис. 1). Деформированные фрагменты его мембран с признаками миелинизации. Их связь с Т-системой на уровне Z-пластинок не прослеживается. Некоторые каналцы содержат распадающиеся органеллы.

Миофибриллы теряют характерную исчерченность. Часто отмечается разволокнение, а местами и гомогенизация I-дисков. Встречаются саркомеры и с полностью распавшимися I- и A-дисками. Отмечаются субсегментарные контрактуры, а также перерастянутые саркомеры. Z-пластинки деформированы и утолщены (рис. 1а).

но почти вдвое (таблица). При этом большинство из оставшихся крист фрагментировано, но нередко они сохраняют параллельное расположение. Встречаются митохондрии и с дугообразными кристами. Наружная и внутренняя мембраны митохондрий, как правило, сохраняют двухконтурность. На этом фоне встречаются и вполне нормальные митохондрии с полностью сохраненной зернистостью матрикса (рис. 1б). В конечном результате описанные изменения митохондрий при 3-дневном ТАМ приводят к понижению КЭЭМ на 25% (таблица).

Ядерные мембраны частично гомогенизированы. Хроматин в основном конденсирован вдоль нуклеолеммы в виде крупных хлопьев.

Количество лизосом значительно увеличено. Они появляются также в необычных местах локализации (под сарколеммой, между миофибриллами). Мембраны их очагово разрушены.

Количество гликогена как под сар-



колеммой, так и между миофибриллами уменьшено. Гликоген представлен в основном в виде изолированных плотных зерен, реже в виде конгломератов. Содержание липидов увеличено, особенно в околоядерной зоне.

плазматического ретикулула, Z-пластинок и сарколеммы отчетливостью. Полости ее расширены, местами вплоть до вакуолизации; вмещают зернистое содержимое. Их пограничная мембрана, особенно на уровне Z-пластинок, истончена.

Таблица

Количественный анализ митохондрий в электрограммах левого желудочка сердца нормальных кроликов и кроликов с ТАМ

Показатель	Интактный кролик (n=8)	ТАМ		
		трехдневный (n=3)	десятидневный (n=3)	тридцатидневный (n=3)
Количество митохондрий в одной электрограмме	20.0 ± 0,72 (100,0)	15,0 ± 1,18** (75,0)	7,0 ± 0,48** (35,0)	18,8 ± 0,8 (94,0)
Количество крист в одной митохондрии	10,0 ± 0,27 (100,0)	6,0 ± 0,42** (60,0)	4,0 ± 0,57** (40,0)	8,6 ± 0,6 (86,0)
Количество крист в одной электрограмме	193,5 ± (100,0)	87,0 ± 6,0** (45,0)	27,0 ± 4,0** (13,9)	151,4 ± 4,7* (78,2)
Площадь одной митохондрии (в мк <sup>2</sup> )	0,15 ± 0,019 (100,0)	0,4 ± 0,054** (266,7)	0,66 ± 0,13** (440,0)	0,23 ± 0,02* (153,3)
Площадь митохондрий в одной электрограмме (в мк <sup>2</sup> )	3,95 ± 0,25 (100,0)	5,0 ± 0,35* (126,6)	5,46 ± 0,5** (138,2)	4,4 ± 0,4 (111,4)
КЭЭМ	766 ± 55 (100,0)	474 ± 56** (61,9)	191 ± 38** (24,9)	640,5 ± 50,6 (83,6)

\* P < 0,05—0,01

\*\* P < 0,001

Примечание: в скобках % от исходной величины

На 10-й день развития ТАМ поражение миокарда приобретает более распространенный и тяжелый характер. В местах поражения сарколемма местами набухшая, с нарушением двухконтурности и гомогенизацией. Пиноцитозная активность резко снижена или даже полностью отсутствует. На поверхности сарколеммы местами (на участках фиксации иммуноглобулина G) скопление хлопьевидных масс, по-видимому, иммунных комплексов. Имеет место расхождение мембран вставочных дисков, вакуолизация и разрыхление смежных плазматических мембран. Т-система разобщена от сарко-

Саркоплазматический ретикулум расширен и местами сдавлен между миофибриллами и набухшими митохондриями. Содержимое его загущено (рис. 2).

Миофибриллы почти полностью утрачивают поперечную исчерченность, отчетны, местами истончены, разволокнены и сдавлены резко набухшими митохондриями. I-диски, а также целые миофибриллы нередко очагово гомогенизированы. На фоне этой картины имеют место субсегментарные и полные контрактуры, а также перерастянутые саркоммеры.

На месте Z-пластинок часто наблюдаются скопления глыбок этой

распавшейся структуры в виде темных пятен (рис. 2).

Количество митохондрий резко уменьшено. Все остающиеся митохондрии предельно набухшие. В результате слияния нескольких рядом расположенных митохондрий появляется значительное количество гигантских

мы, а также лизосомы, слившиеся с митохондриями (в этом случае они приобретают общую с митохондриями мембрану). В большинстве лизосом мембраны размыты, с точечными разрывами. Содержимое их неравномерной плотности. Окружающая цитоплазма, а также некоторые орга-

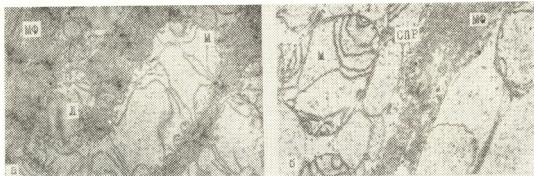


Рис. 2. Электронограммы левого желудочка сердца кролика при 10-дневном ТАМ ( $\times 17500$ ). Обозначения те же, что и на рис. 1

(рис. 2 б). В связи с этим средняя площадь их возрастает на 340% (таблица). Матрикс во многих митохондриях полностью вымыт. Число крист резко уменьшено. Остающиеся единичные кристы имеют дугообразную форму и нередко образуют анастомозы. В большинстве митохондрий нарушена двухконтурность и непрерывность наружной мембраны (рис. 2). КЭЭМ резко снижен — уменьшен на 75% (таблица).

неллы распавшиеся.

Количество гликогена резко уменьшено, особенно в зонах кардиомиоцита со значительным отеком и дезинтеграцией структур. Некоторые кардиомиоциты вообще лишены гликогена (рис. 2 а, б).

Пиноцитозная активность сарколеммы и ее двухконтурность к 30-му дню заболевания полностью восстанавливается, но местами еще наблюдаются участки гомогенизации. Щель

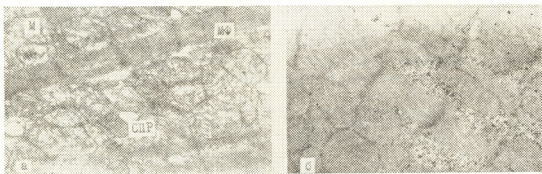


Рис. 3. Электронограмма левого желудочка сердца кролика при 30-дневном ТАМ ( $\times 15500$ ). Обозначения те же, что и на рис. 1

Ядра имеют изрезанные контуры. Нуклеолема уплотнена, с высокой степенью гетерохроматизации. Крупные грубые глыбки хроматина скапливаются вдоль внутренней поверхности ядерной мембраны.

Количество лизосом еще больше возрастает, размер их увеличивается. Псывляются гигантские лизосо-

вставочного диска несколько расширена и наблюдается избыточная извитость мембран. Полости Т-системы также несколько расширены, а содержимое загущено. Контакты Т-системы с Z-пластинками, вставочными дисками и сарколеммой восстанавливаются — результат почти полного исчезновения отека клетки.

Саркоплазматический ретикулум трудно различим из-за большого скопления митохондрий. Элементы его (там, где они просматриваются) несколько расширены, но мембраны их четко различимы. Содержимое нормальной плотности (рис. 3).

Анизотропные и изотропные зоны становятся хорошо различимыми (рис. 3а), хотя и не в такой мере, как в нормальных саркомерах. Отек сходит, разволокнение исчезает. Очаги деструкции в саркомерах встречаются лишь изредка. Структура Z-пластинок почти полностью восстанавливается, хотя в некоторых саркомерах они и остаются несколько утолщенными.

Наблюдается утолщение, избыточная осmioфильность и огрубение миофибрилл, особенно в области А-дисков. Митохондрии, примыкающие к таким саркомерам, также увеличены в размерах и содержат густую анастомозирующую сеть крист.

Полностью разрушенные митохондрии встречаются редко. Количество их восстанавливается (таблица). Двухконтурность мембран становится хорошо различимой, а матрикс приобретает зернистую структуру. Митохондрий, образующихся в результате слияния нескольких, почти не встречается. Преобладают митохондрии эллипсоидной формы, располагающиеся между миофибриллами в виде скоплений. Средняя площадь митохондрий слегка увеличена. Количество крист в них по сравнению с 10-дневным ТАМ резко увеличено и приближается к нормальному (таблица), расположены они параллельно, но большинство из них все еще разрушено на крупные фрагменты (рис. 3а). КЭЭМ приближается к норме (таблица). Ядерная мембрана двухконтурна. Содержит эухроматин, который распределен равномерно по всей кардиоплазме. Лизосомы уменьшаются в числе и становятся однородными по размеру и форме. Все они с четко ограниченной мембраной.

Содержание гликогена в большинстве кардиомицитов как под сарко-

леммой, так и вокруг митохондрий, а также вдоль миофибрилл восстанавливается. Крупные конгломераты гликогена сосредоточены в зоне локализации Z-пластинок (рис. 3б).

**Сократительная способность митохондрий.** Сократительная способность глицеринизированных митохондрий к третьему дню развития ТАМ снижается на 11,6% ( $P < 0,02$ ), а к десятому — на 56,6% ( $P < 0,001$ ). К тридцатому дню заболевания сократительная способность митохондрий

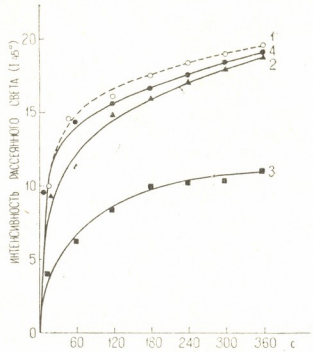


Рис. 4. Динамика сокращения глицеринизированных митохондрий левого желудочка сердца кроликов: контроль (1); тсксико-аллергический миокардит трехдневной (2), десятидневной (3) и тридцатидневной (4) продолжительности

восстанавливается (рис. 4). Одновременно снижается и скорость сокращения митохондрий, опять-таки в наибольшей степени к десятому дню патологии. То, что при этом имеет место сокращение объема митохондрий и уплотнение их мембран, подтверждено нами электронномикроскопически\* — площадь нормальных глицеринизированных митохондрий после внесения АТФ уменьшается более чем в пять раз.

\* Это совпадает с данными Наказавы [27].



Таким образом, при ТАМ имеет место повреждение структуры всех трех систем миокардиальной клетки, ответственных за акт сокращения-расслабления. Эти повреждения четко проявляются уже к 3-му дню развития ТАМ, но своего максимума достигают к 10-му дню и почти полностью устраняются к тридцатому дню заболевания. Это совпадает с результатами как светооптических исследований [3], так и с динамикой изменения сократительных свойств системы контрактильных белков, их энергетической обеспеченностью [3] и функциональным состоянием фрагментированного эндоплазматического ретикула [7].

Повреждения I-дисков саркомеров, разрывы и гомогенизация, имевшие место при ТАМ, а также наблюдавшиеся другими исследователями при различных заболеваниях сердца [12, 20, 21] и поперечно-полосатых мышц [19], при этом нередко как ранний признак лизисных поражений миофибрилл [11, 18], должны быть обусловлены при ТАМ [8] и других заболеваниях сердца [5, 8] изменением свойств основного белка тонкой протофибриллы — актина, который, в частности, значительно хуже полимеризуется\*. В свою очередь, изменение свойств миозина [8], что происходит позже поражения актина [8], должно лежать в основе нарушений в А-диске.

Показано, что поражение актина при ТАМ приводит к уменьшению способности системы контрактильных белков развивать напряжение, а поражение миозина — к снижению скорости развиваемого напряжения [8].

Однако другим важным моментом, ведущим к уменьшению генерации тянущего усилия в системе контрактильных белков, по-видимому, нужно считать разобщение (разволокнение) протофибрилл отеком, что, безусловно, должно затруднить, если не исключить, взаимодействия толстых и тонких нитей миофибрилл. И, наконец, третьим моментом, по-видимому,

является укороченное, контрактурное состояние миофибрилл, свидетельствующее об уменьшении их растяжимости в диастоле, что, очевидно, при ТАМ связано с дефицитом АТФ [3].

Из полученных нами данных следует, что в основе выраженного дефицита энергии (содержание АТФ уменьшается на 60%, а КФ наполовину) при ТАМ [3] лежит, с одной стороны, уменьшение числа митохондрий, а с другой — деструкция и дезорганизация их мембран, которые при ТАМ теряют способность к сокращению\*\*, конформационным переходам, необходимым для осуществления процесса переноса электронов.

По-видимому, немаловажную роль в нарушении транспорта электронов имеет и потеря определенного количества цитохрома С митохондриями при ТАМ [2]. В пользу такого предположения свидетельствует и результат применения цитохрома С с лечебной целью — происходит нормализация содержания цитохрома С в митохондриях и повышение количества АТФ в миокарде до нормального уровня [6].

Изменения в системе сарколема — саркоплазматический ретикулум в свою очередь сочетаются со значительно меньшей способностью ФСР связывать, поглощать и высвобождать кальций [7].

Немаловажную роль может играть внутриклеточный отек, разобщающий Т-систему от саркоплазматического ретикула и Z-мембран в процессах сопряжения возбуждения с сокращением; нарушение плотности прилегания митохондрий друг к другу и к миофибриллам, в свою очередь, может затруднять транспорт энергии в миокардиальной клетке.

Таким образом, одновременное структурно-функциональное повреждение всех трех систем миокардиальной клетки, ответственных за акт сокращения-расслабления, можно считать, лежит в основе тяжелой недостаточности сердца, развивающейся при воспалительных повреждениях миокарда.

\* В механизме повреждения I-дисков саркомеров при ТАМ, по-видимому, определенную вторичную роль играют и аутоиммунные процессы — показано, что антитела, полученные на гомогенат миокарда, связываются с I-диском [1].

\*\* Природа сокращения митохондрий является предметом серьезных дискуссий [10, 17].





Ультраструктурные изменения в кардиомиоцитах, констатированные нами в этой работе, неспецифичны и наблюдаются не только при ТАМ, но и при аутоиммунной кардиомиопатии [23], аллергическом [11], дифтерийном [14] и катехоламиновом [16] повреждении мышцы сердца, а также при бактериальном эндомиокардите [28], которые также сопровождаются энергетическим дефицитом, снижением АТФазной активности миофибрилл и нарушением связывания и поглощения кальция эндоплазматическим ретикулом. Они настолько неспецифичны для воспалительных повреждений

миоцитов, что их элементы полностью или частично описаны и при других поражениях мышцы сердца — в частности при ишемии [20], тиреотоксикозе [18] и раздражении задней области гипоталамуса [9].

Тот факт, что аналогичные изменения наблюдаются и при кардиомиопатиях у человека [13], дает основание полагать, что отмеченные ультраструктурно-функциональные изменения в указанных системах лежат и в основе недостаточности сердца у человека при воспалительных повреждениях миокарда.

#### ЛИТЕРАТУРА

- Белецкая Л. В., Исмаилова Ю. С., Данилова Т. А., Булл. экпер. биол. и мед., LXVIII, XI, 65—69, 1969.
- Карсанов Н. В., Бакоева С. А., Колесникова Т. В., Селихова Е. В., Отверченко В. Н. В сб.: Респ. науч. конф. по эвзимологии. Тбилиси, 25—26 июня 1981, 138—140.
- Карсанов Н. В., Капанадзе Р. В., Селихова Е. В., Убери Н. П. Изв. АН ГССР, сер. биол., 6, 5, 429—439, 1980.
- Карсанов Н. В., Лацабидзе И. Л., Селихова Е. В. В сб.: Ультраструктура сердечно-сосудистой системы в норме и патологии, «Медициереба», Тбилиси, 1976, 84—85.
- Карсанов Н. В., Самсонидзе Т. Г., Джинчвелашвили Б. Г., Эристави Д. Д. В сб.: ультраструктурные основы патологии сердца и сосудов, «Медициереба», Тбилиси, 1980, 88—91.
- Карсанов Н. В., Хайндрава Н. К. В сб.: Мат. II Всес. симп. по медицинской эвзимологии, Душанбе, 1974, 74—75.
- Карсанов Н. В., Хугашвили З. Г., Эдишерашвили Н. О., Зунияи Р. В. Изв. АН ГССР, сер. биол., 7, 5, 468—476, 1981.
- Карсанов Н. В., Эристави Д. Д., Джинчвелашвили Б. Г. Изв. АН ГССР, сер. биол., 7, 6, 561—568, 1981.
- Картвелишвили Ц. Е., Цагарели З. Г. Сообщения АН ГССР, 95, 2, 457—460, 1979.
- Ляхович В. В. Успехи совр. биол., 76, 2, 230—245, 1973.
- Мульдияров П. Я., Гроздова М. Д., Старостина Л. К. Кардиология, 15, 11, 48—53, 1975.
- Никогосова М. О., Шперлинг И. Д., Потанова Л. К. В сб.: Ультраструктурные основы патологии сердца и сосудов, «Медициереба», Тбилиси, 1980, 159—160.
- Палеев Н. Р., Одинокова В. А., Гуревич М. А., Смирнов В. Б., Найштут Г. М., Калишштейн Д. Б. Кардиология, XX, 11, 10—18, 1980.
- Пауков В. С., Казанская Т. А., Фролов В. А. Арх. пат., 32, 12, 47—58, 1970.
- Саркисов Д. С., Втюрии Б. В. Электронномикроскопический анализ повышения выносливости сердца, «Медицина», М., 1969.
- Семенова Л. А., Целларнус Ю. Г., Ерисковская Н. К. Cor et Vasa, 14, 3, 192—198, 1972.
- Скулачев В. П. Трансформация энергии в биомембранах, «Наука», М., 1972.
- Струков А. И., Пауков В. С. Кардиология, XXI, 5, 5—12, 1981.
- Целларнус С. Ф., Целларнус Ю. Г. Гистопатология очаговых и метаболических повреждений волокон соматической мускулатуры, «Наука», Новосибирск, 1979.
- Чечулия Ю. С. Поврежденное сердце «Медицина», М., 1975.
- Шаров В. Г. Кардиология, 15, 12, 73—79, 1975.
- Шаров В. Г., Быковская К. Н., Сакс В. А. Арх. пат., 41, 2, 15—21, 1979.
- Hackenbroeck C. R. J. Cell Biol., 30, 269—297, 1967.



24. Hackenbrook C. R., Rehn T. G., Weinbach E. C., Lemasters Y. Y., J. Cell Biol., 51, 1, 123-137, 1971.

25. Harris R. A., Penniston J. T., Asai J., Green D. E. Proc. Nat. Acad. Sci. USA, 59, 3, 830-837, 1968.

26. Karsanov N. V., Eristavi G. Studia Biohysica, 85, 1, 29-30, 1981.

27. Nakazawa T. Biochemistry, 56, 1, 22-36, 1964.

28. Tomlinson C. W., Lee S. L., Dhalla N. S. Circ. Res., 39, 1, 82-92, 1976.

კარდიომიოციტების ულტრასტრუქტურის ცვლილება და მიტოქონდრიების უმაჯობადი თვისებები ტოქსიკურ-ალერგიული მიოკარდიტის დროს

ნ. ვ. კარსანოვი, ლ. ე. გოგიაშვილი, ი. ლ. ლაცაბიძე, ე. ვ. სელიხოვა

საქართველოს სსრ ჯანმრთელობის დაცვის სამინისტროს სამედიცინო ბიოფიზიკის რესპუბლიკური სამეცნიერო-კვლევითი ცენტრი, თბილისი

რ ე ზ ი უ მ ე

ბოცვრებზე დაყენებული ცდებით გამოიკვია, რომ ტოქსიკურ-ალერგიული მიოკარდიტების დროს ერთდროულად ზიანდება კარდიომიოციტების იმ სამივე სისტემის ულტრასტრუქტურა, რომლებიც უზრუნველყოფენ შეკუმშვა-მოღუნების აქტს, აგზუნებისა და მასზე დამოკიდებული შეკუმშვისა და აგრეთვე შეკუმშვის ძალის მარეგულირებელ სისტემას (სარკოლემა, T-სისტემა, სარკოპლაზმური რეტკულუმი), ენერგიით უზრუნველყოფის სისტემას და მიოკარდის უჯრედის შეკუმშვად აპარატს. ყველაზე მეტი დაზიანება ტოქსიკურ-ალერგიული მიოკარდიტის განვითარების მეთავე დღეს აღინიშნება, ხოლო ოცდამეთავე დღისათვის თითქმის სრულად არის აღმდგარი კარდიომიოციტების ულტრასტრუქტურა და გლიკოგენის რაოდენობა, რომელიც დაავადების მეთავე დღისათვის თითქმის მთლიანად იყო გამქრალი. ამავე დროს ხდება კარდიომიოციტების ორგანელების ჰიპერტროფია და ჰიპერპლაზია.

მიტოქონდრიების შეკუმშვის უნარიანობაც მაქსიმუმამდე მცირდება დაავადების მეთავე დღისათვის, ხოლო ოცდამეთავე დღისათვის ესეც მთლიანად არის აღმდგარი.

CARDIOMYOCYTE ULTRASTRUCTURAL CHANGES AND MITOCHONDRIAL CONTRACTILE PROPERTIES IN TOXI-ALLERGIC MYOCARDITIS

N. V. KARSANOV, L. E. GOGIASHVILI, I. L. LATSABIDZE, E. V. SELIKHOVA

The Republican Research Centre of Medical Biophysics of Georgian SSR Public Health Ministry, Tbilisi

S u m m a r y

It has been shown that in rabbits with toxi-allergic myocarditis (TAM) the ultrastructure of all the three cardiomyocyte systems responsible for contraction-relaxation process was damaged simultaneously: the system of excitation-contraction coupling as well as of regulation of contraction force (sarcolemma, T-system, sarcoplasmic reticulum), energy supply and contractile apparatus. The most intensive damage was observed on the 10th day of TAM development and had

a mosaic character both within the tissue and within a cell.

Almost complete restoration of ultrastructures and glycogen content (after its almost complete disappearance by the 10th day) occurred on the 30th day of the disease; hypertrophy and hyperplasia of cardiomyocyte organelles taking place thereat. Mitochondrial ability to contract decreased most intensively on the 10th day and was completely restored by the 30th day of the disease.

УДК 611.018.83:611.8.13.1

ГИСТОЛОГИЯ

## ЭЛЕКТРОННОМИКРОСКОПИЧЕСКОЕ ИССЛЕДОВАНИЕ ДЕГЕНЕРАЦИИ МИЕЛИНОВЫХ НЕРВНЫХ ВОЛОКОН

Э. И. Дзамоева, И. Л. Лазриев

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

Поступила в редакцию 01.10.1981

Изучена дегенерация миелиновых нервных волокон в двигательной области коры головного мозга и мозолистого тела кошек через 1, 4, 8, 14, 30, 45, 60, 90, 180 дней после подрезки подлежащего белого вещества коры 4 поля.

В дегенерированном миелиновом волокне наблюдается уплотнение и сморщивание матрикса аксоплазмы, расслоение мембран миелиновой оболочки. Дегенерация миелиновой оболочки по времени совпадает с перерождением осевого цилиндра и пресинаптических терминалей. В фагоцитозе дегенерированных миелиновых нервных волокон активное участие принимают микроглиоциты и астроциты. Фагоцитная реакция астроцитов наиболее выражена в период усиленного распада миелиновых нервных волокон. Уменьшение числа дегенерированных нервных волокон совпадает с образованием глиального рубца астроцитами.

В литературе широко освещены вопросы, касающиеся ультраструктурных изменений в аксонных терминалях и нервных волокнах при дегенерации [1, 3, 4, 5, 6, 8, 9]. Однако в этих исследованиях основное внимание уделяется изучению деструктивных процессов в пре- и постсинаптических окончаниях. Вопросы же дегенерации миелиновых нервных волокон были затронуты лишь побочно. Оставалась почти не исследованной роль глиальных клеток в удалении продуктов распада дегенерированных структур, при

этом не принимался во внимание тот факт, что в процессах фагоцитоза и образовании глиального рубца астроциты, олигодендроциты и микроглиоциты могут принимать различное участие.

Исходя из вышеизложенного, целью данного исследования явилось изучение процессов дегенерации миелиновых нервных волокон и реакции глиальных клеток в коре головного мозга и мозолистом теле на различных этапах после подрезки подлежащего белого вещества.

### МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Опыты проводились на кошках, которым производилась односторонняя подрезка подлежащего белого вещества 4 поля моторной области коры больших полушарий. Через 1, 4, 8, 14, 30, 45, 60, 90, 180 дней после операции головной мозг перфузировали 2,5%-ным раствором глутаральдегида на фосфатном буфере. Контролем служил головной мозг (4 поле и мозолистое тело) четырех неоперированных кошек. Маленькие кусочки из серого и

подлежащего белого вещества 4 поля коры головного мозга, а также ростральной части мозолистого тела в течение 2—3 ч фиксировали в холодном растворе 2%-ной осмиевой кислоты. После дегидратации материал заключали в аралдит. Срезы толщиной 40—60 мкм контрастировали раствором лимоннокислого свинца и просматривали в электронном микроскопе JEM-100 С.



## РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

Подрезка подлежащего белого вещества коры приводит к дегенерации нервных волокон и их окончаний, что в свою очередь влечет за собой резкую реакцию глиальных клеток. Эти процессы ярче выражены в белом, чем в сером веществе коры, тогда как в

мозолистом теле дегенерирует незначительное число волокон. Здесь же следует отметить, что, несмотря на вышесказанное, характер процессов перерождения нервных волокон и реакция глиальных клеток во всех изучаемых областях являются однотипны-

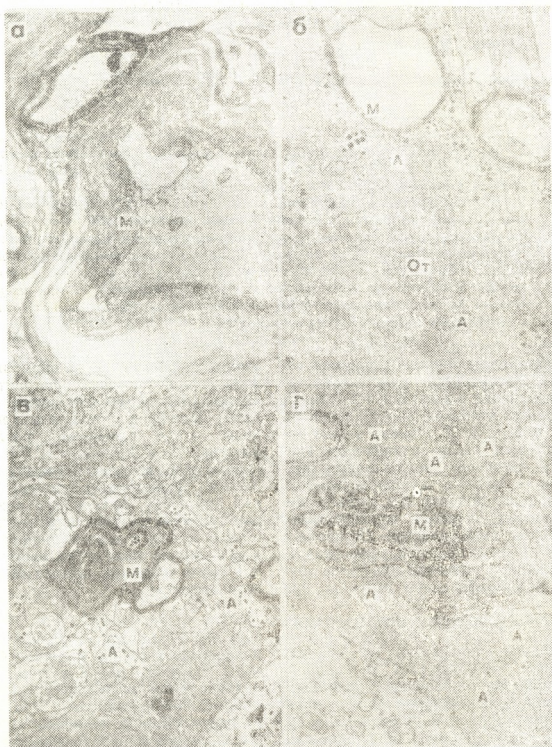


Рис. 1. Участки подлежащего белого (а) и серого (б, в, г) вещества 4 поля коры головного мозга кошки через 1 (а), 14 (б) и 30 (в, г) дней после подрезки: М—дегенерирующее миелиновое волокно; А—отросток астроцита; Ог—отросток олигодендрокита.

× а—16 000, б—23 000, в—15 000, г—20 000



ми, и поэтому в дальнейшем результаты исследования приводятся обобщенно.

Уже через 24 ч после операции, наряду с дегенерирующими пресинапти-

волокон является сморщивание и вышннее электроннооптической плотности аксоплазмы осевого цилиндра, его отхождение от миелиновой оболочки и образование между ними свобод-

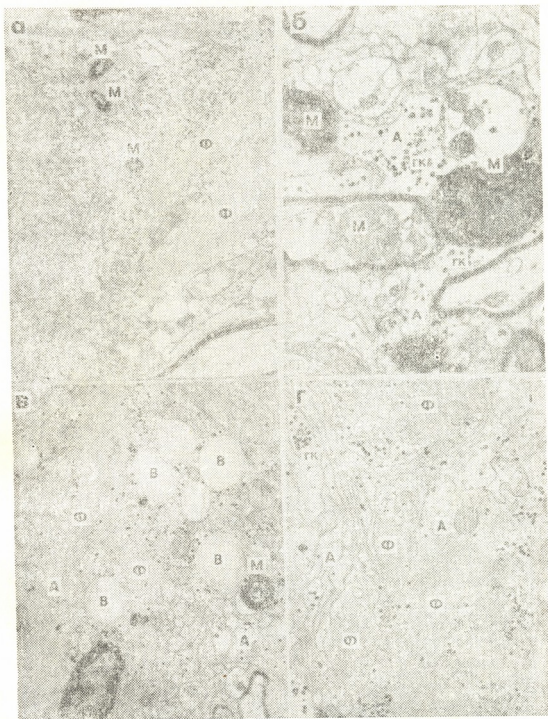


Рис. 2. Серое вещество 4 года жизни головного мозга через 14 (а), 30 (б), 45 (в) и 90 (г) дней после подрезки. Реактивные гестциты и их отростки, содержащие фрагменты дегенерированных миелиновых волокон (М); в—вакуоли; ф—глиофибриллы; гк—зерна гликогена;  $\times$  а—19 000, б—30 000, в—18 000, г—23 000

ческими терминалями, наблюдается начало перерождения толстых и тонких миелиновых нервных волокон, однако значительная часть их остается интактной. Первыми признаками начала дегенерации миелиновых нервных

пространств (рис. 1 а). Наряду с этим в некоторых дегенерированных миелиновых волокнах аксоплазма приобретает ячеечное строение, содержит вакуоли различных размеров и электронноплотные включения. Одновре-

менно с этими процессами наблюдается расширение и расслоение миелиновой оболочки (рис. 1а). В некоторых волокнах, наоборот, происходит слипание мембран миелиновой оболочки, а само волокно деформируется.

ки в процесс дегенерации вовлекается и миелиновая оболочка. Однако, как видно из результатов нашего исследования, в большинстве волокон дегенерация осевого цилиндра и миелиновой оболочки происходит одновре-

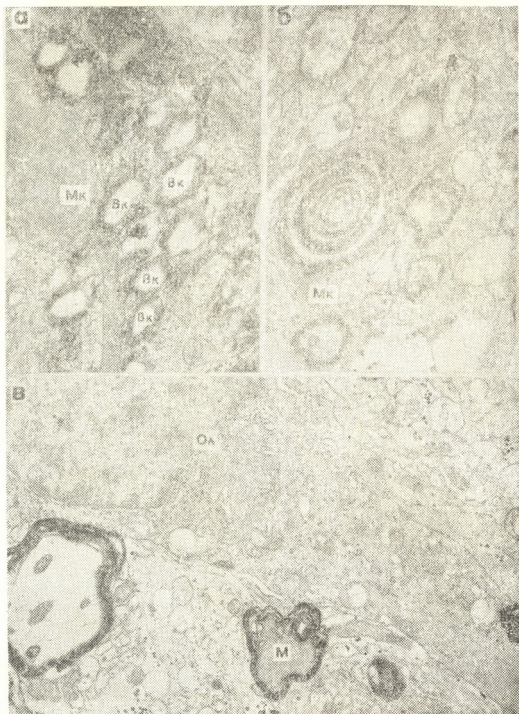


Рис. 3. Участки подлежащего белого (а) и серого (б, в) вещества 4 поля коры головного мозга через 14 (а), 30 (в) и 60 (б) дней после подрезки. Реактивные микроглиоциты (Мк) и олигодендроцит (Ол); вк—включения с электронноплотным ободком.  $\times$  а—20 000, б—22 000, в—18 000

Согласно данным литературы [8, 11, 13] уже через 24 ч после перерезки аксона начинается перерождение осевого цилиндра, а в более поздние сроки

Почти одновременно с началом процесса дегенерации миелиновых нервных волокон наблюдается реакция астроцитов, тогда как другие гли-

альные клетки остаются интактными. Отмечается гипертрофия астроцитарных отростков, резкое увеличение частиц гликогена и плотных тел как в перикарионе, так и в отростках.

ную часть дегенерирующего волокна а в некоторых случаях уже не заметна в волокне (рис. 1б).

Перерождение миелиновых нервных волокон достигает максимума как в

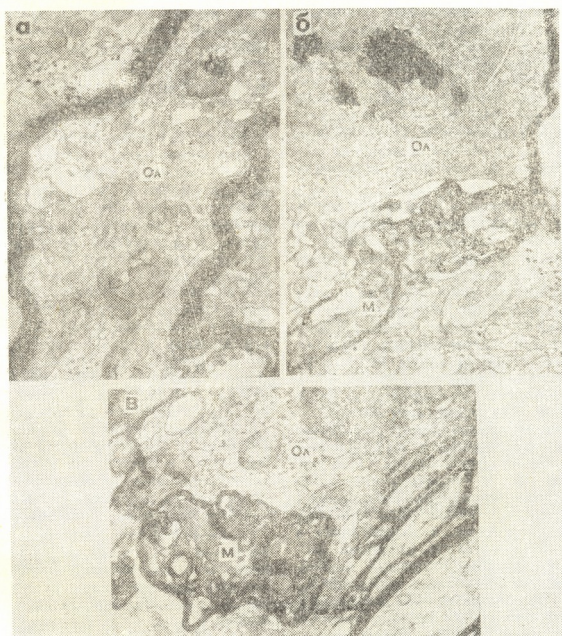


Рис. 4. Учетки серого вещества 4 поля коры головного мозга (а, б) и мозолистого тела (в) через 30 (а), 60 (б) и 180 (в) дней после операции: а—олигодендроцит, окруженный миелиновой оболочкой; б, в—реактивные олигодендроциты в контакте с дегенерировавшими миелиновыми волокнами.  $\times$  а—23 000, б—24 000, в—30 000

В дальнейшем (4, 8, 14 день после операции) нарастает количество нервных волокон, находящихся в различных стадиях дегенерации. Здесь, наряду с волокнами с расслоенной миелиновой оболочкой и сморщенной аксоплазмой, наблюдаются волокна, оболочка которых значительно истончена, а аксоплазма сморщена до такой степени, что занимает лишь незначитель-

качественном, так и количественном отношении на 30—60 день после подрезки. Сморщивание и расслоение мембран миелиновой оболочки достигает таких размеров, что создается впечатление как будто одно волокно находится внутри другого (рис. 1 в, г, 3 в, 4 б). Отмечается сильная деформация перерожденных волокон, кото-



рые приобретают самые разнообразные очертания.

Дегенеративные процессы в перерожденном нервном волокне приводят к фрагментации осевого цилиндра, миелиновой оболочки и захвату их нейтроглиальными клетками — астроцитами и микроглиоцитами. Фагоцитная реакция астроцитов и микроглиоцитов в ответ на дегенерацию миелиновых нервных волокон начинается на 4 день после операции и продолжается вплоть до 45 дня. Пик хорошо выраженной реакции отмечается с 14 по 45 день после операции — когда основная масса волокон подвергается перерождению.

В перикарионе и в отростках астроцитов обнаруживаются мембранные включения неправильной формы и различных размеров, по всей вероятности являющиеся фрагментами дегенерированных миелиновых волокон, а также вакуоли с электронносветлым содержимым, которые можно рассматривать как жировые капли, представляющие собой продукты распада перерожденных волокон (рис. 2а, б, в). В цитоплазме астроцитов отмечается большое количество глиофибрилл, образующих мощные пучки, располагающиеся в продольном и поперечном направлении. Значительная часть нейропила занята гипертрофированными отростками астроцитов, содержащими мощные пучки глиофибрилл (рис. 2б). Отростки астроцитов разрастаются и тонкими прослойками окружают различные структуры нейропила. Особенно многочисленны такие прослойки вокруг пресинаптических терминалей, перерожденных миелиновых нервных волокон (рис. 1г), а также вокруг микроглиальных клеток.

Наряду с астроцитами, в фатоцитозе перерожденных миелиновых нервных волокон активное участие принимают микроглиоциты. Отмечается пролиферация и групповое расположение этих клеток. Ядра их резко полиморфны. Цистерны эндоплазматической сети удлиняются и растет их число. Наряду с плотными телами, цитоплазма микроглиоцитов содержит включения округло-овальной формы, имеющие электронноплотный ободок и светлую сердцевину. Часто встречаются фрагменты миелиновых нервных волокон и «пустые» вакуоли. В период наи-

большого распада миелиновых нервных волокон обнаруживается большое количество микроглиоцитов, цитоплазма которых заполнена фрагментами дегенерированных структур и различными включениями, что непосредственно указывает на превращение микроглиоцитов в так называемые «зернистые шары» (рис. 3а, б).

В более поздние сроки (90, 180 дней после операции) значительная часть оставшихся миелиновых волокон не изменена. Однако еще наблюдаются волокна, находящиеся в различной стадии перерождения (рис. 4в). В эти сроки отчетливые изменения обнаружены в астроцитах, тогда как реакция микроглиоцитов уже ослаблена, перикарион и отростки последней свободны от фрагментов дегенерированных структур. Следует отметить, что наряду с резким снижением фагоцитной активности астроцитов, наиболее четко проявляется их участие в образовании глиального рубца. Значительная площадь нейропила занята телами астроцитов, их длинными и толстыми отростками, содержащими большое количество глиофибрилл (рис. 2г). Многочисленные разветвления астроцитарных отростков находятся в контакте с различными структурами нейропила. В цитоплазме и отростках таких астроцитов не обнаруживаются ни фрагменты дегенерированных нервных волокон, ни «пустые» вакуоли.

Согласно данным целого ряда исследователей [10, 12, 14, 15] олигодендроциты не принимают участие в фагоцитозе дегенерированных миелиновых волокон. Однако другие [2, 7] признают за ними эту функцию. Как показали наши исследования, в фагоцитозе дегенерированных фрагментов, в отличие от астроцитов и микроглиоцитов, олигодендроциты принимают незначительное участие. Даже в период наибольшей выраженности процессов перерождения наблюдается только некоторое повышение электроннооптической плотности цитоплазматического и ядерного матрикса олигодендроцитов, рост числа цистерн эндоплазматической сети, полисом, плотных тел и микротрубочек. Фрагменты же дегенерированных структур в цитоплазме олигодендроцитов не обнаружены, хотя нередко можно наблюдать тесный контакт перикариона олигодендроцита





с дегенерированным миелиновым волокном (рис. 3 в, 4 б, в). На 30—45 день после операции в коре головного мозга и в мозолистом теле появляются олигодендроциты, перикарион которых полностью или частично окружен миелиновой оболочкой. Можно предположить, что усиленный распад и разрушение перерожденных миелиновых волокон стимулирует процесс миелинообразования, а это приводит к окружению олигодендроцитов миелиновой оболочкой (рис. 4 а).

Таким образом, результаты наших

исследований показали, что при разрезе нервных волокон одновременно с дегенерацией осевого цилиндра и пресинаптических терминалей начинается распад миелиновой оболочки. В процессе фагоцитоза активное участие принимают микроглиоциты и астроциты. Фагоцитарная реакция астроцитов наиболее выражена в период усиленного распада миелиновых нервных волокон. Уменьшение числа дегенерированных нервных волокон совпадает с активацией участия астроцитов в образовании глиального рубца.

ЛИТЕРАТУРА

1. Микеладзе А. Л. Сообщения АН ГССР, 50, 747—752, 1968.
2. Жаботинский Ю. М., Щеглова Р. В. В кн.: Функция нейроглии, «Медицина», Тбилиси, 1979, 194—202.
3. Adinolfi A. M. Exp. Neurol., 25, 246—254, 1969.
4. Bignami A., Ralston H. J. Brain Res., 13, 444—461, 1969.
5. Bunge R. P., Bunge M. B., Ris H. J. Biochem. Cytol., 10, 67—94, 1961.
6. Collonier M., Gray E. G. In: Electron microscopy. Ed S. S. Breese Jr, Academic Press, New York—London, 3, 1962.
7. Cook R. D., Wisniewski M. H. Brain Res., 61, 191—206, 1973.

8. Gray E., Hamlyn L. H. J. Anat., 96, 309—316, 192.
9. Guillery R. W. Progr. Brain Res., 14, 57—76, 1965.
10. Kruger L., Maxwell D. S. Amer. J. Anat., 125, 247—270, 1969.
11. Maxwell D. S., Kruger L. J. Cell Biology, 25, 141—156, 1965.
12. Mugnaini E., Walberg F. Exp. Brain Res., 4, 212—236, 1957.
13. Smith C. A., Rasmussen G. L. J. Cell Biol., 26, 63—77, 1965.
14. Schultz R. L., Pease D. C. Am. J. Pathol., 35, 1017—1059, 1965.
15. Vaughn V. E., Pease D. C. J. Comp. Neurol., 140, 2, 207—226, 1970.

მიეღინურ ნერვული ბოჭკოების გადაგვარების ელექტრონული მიკროსკოპული გამოკვლევა

ა. სამოვა, ი. ლაზრიძე

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

რეზიუმე

ელექტრონულმიკროსკოპიულად შესწავლილ იქნა, თუ როგორ მიმდინარეობს ზრდასრული კატის თავის ტვინის ქერქის მოტორული უბნისა და კორძიანი სხეულის მიეღინიანი ნერვული ბოჭკოების გადაგვარების პროცესი ქერქქვეშა თეთრი ნივთიერების გადაკვეთის შედეგად. გადაგვარების ხასიათს ვიკვლევდით გადაკვეთიდან 1, 4, 8, 14, 30, 45, 60, 90 და 180 დღის შემდეგ.

გადაგვარებულ მიეღინურ ბოჭკოში

ხდება აქსოლამის მატრიქსის შემკვრივება და შექმუხვნა, მიეღინური გარსის მემბრანების განშრევება. მიეღინური გარსის, აქსონ-ცილინდრისა და პრესინაფსური ტერმინალების გადაგვარების პროცესი ერთდროულად მიმდინარეობს. დეგენერირებული მიეღინური ბოჭკოების შთანქმეში აქტიურ მონაწილეობას იღებენ ასტროციტები და მიკროგლიოციტები. ასტროციტების ფაგოციტური აქტივობა მიეღინური ნერვული ბოჭკოების დეგენე-

რაცის ინტენსიობის პირდაპირპროპორციულია. დეგენერირებულ ნერვულ ბოჭკოთა რიცხვის შემცირებასთან ერთად ას-

ტროციტების მიერ წარმოიქმნება რი ნაწიბური.



## ELECTRON MICROSCOPICAL INVESTIGATION OF DEGENERATION OF THE MYELINATED NERVE FIBRES

E. I. DZAMOEVA, I. L. LAZRIEV

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

### Summary

The degeneration of the myelinated nerve fibres in the motor cortex and corpus callosum of the cat's brain after 1, 4, 8, 14, 30, 45, 60, 90 and 180 days of the section of the white matter in field 4 of the cortex was studied.

In the degenerated myelinated fibres the increase of density and shrinkage of axoplasmic matrix were observed. Myelin sheath underwent delamination.

The degeneration of myelin sheath

coincided in time with that of axon cylinder and presynaptic terminals. Degenerated myelinated nerve fibres were phagocytized mainly by astrocytes and microgliaocytes. Phagocytic activity of astrocytes was more pronounced in the period of enhanced decay of myelinated nerve fibres. The decrease of the number of degenerated nerve fibres coincided with the formation by astrocytes of a glial scar.

УДК 611.813.1+591.88

ГИСТОЛОГИЯ

## ИЗМЕНЕНИЯ ЯДЕРНО-ПЛАЗМЕННЫХ ОТНОШЕНИЙ НЕЙРОНОВ КОРЫ БОЛЬШИХ ПОЛУШАРИЙ СОБАКИ В ПРОЦЕССЕ ПОСТНАТАЛЬНОГО ОНТОГЕНЕЗА

И. Г. Харебава, Ц. Г. Медулашвили

*Тбилисский государственный педагогический институт им. А. С. Пушкина*

Поступила в редакцию 26.10.1981

В результате послойного анализа ядерно-плазменных отношений нейронов коры поля РС<sub>1</sub> щенят разных возрастов и годовалых собак установлено, что у новорожденных животных нейроны характеризуются высокими показателями индекса NP и соответственно значительной незрелостью. В процессе дифференциации ядерно-плазменные отношения нейронов постепенно снижаются и достигают конечных показателей лишь у годовалых животных, что свидетельствует об установлении в этом возрасте definitiva соотношения размеров ядра и цитоплазмы.

Наличие во всех слоях определенного для каждого возраста соотношения нейронов с разными показателями ядерно-плазменных отношений подтверждает наше положение о гетерохронном характере процесса постнатальной дифференциации неокортикальных нейронов.

Показатели ядерно-плазменных отношений отражают и более высокую степень зрелости нейронов нижнего этажа у щенят на всех этапах развития мозга, а также более стремительные темпы постнатального развития нейронов верхнего этажа.

При изучении особенностей, темпов и сроков постнатального нейрогенеза коры больших полушарий собаки нами, на основании данных о дифференциации внутренней и внешней структуры нейронов, была обнаружена гетерохрония созревания неокортикальных нейронов и гетерогенность нейронного состава в отношении степени зрелости нервных клеток одного типа и слоя. Для подтверждения установленной особенности предпринято исследование изменений ядерно-плазменных отно-

шений нейронов коры поля РС<sub>1</sub> собаки в процессе постнатального онтогенеза.

Ядерно-плазменные отношения, отражающие степень зрелости нейронов, в процессе развития нервной клетки, как правило, уменьшаются, что обусловлено нарастанием цитоплазмы [2, 6, 11], объем которой в дифференцирующихся нейронах увеличивается интенсивнее, чем объем ядра [15], причем ядро нервной клетки в процессе развития созревает раньше цитоплазмы [4].

### МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ

Ядерно-плазменные отношения нейронов коры поля РС<sub>1</sub> анализатора кожной чувствительности собаки устанавливались на уровне всех слоев, кроме слоя I, во всех изученных возрастах (новорожденные, двухнедельные, месячные, трехмесячные щенята и годовалые собаки). Замеры большого и малого диаметров нервной клетки про-

изводились с препаратов, окрашенных кризил-виолетом по методу Ниссля, используемому в Институте мозга, винтовым окулярным микрометром МОВ-1-15. В каждом слое измерялось по 100 нейронов, взятых из трех серий одного возраста. При измерении пирамидных нейронов в соответствии с рекомендациями С. М. Блин-

кова и И. И. Глезер [3] брались длиннотный и широтный диаметры клетки. Для определения объема тела клетки и ядра по полученным линейным размерам использовали формулу Томаш, Ебнесайде [20], где  $a$  и  $b$  — два взаимно перпендикулярных диаметра клетки или ядра. Ядерно-плазменные отношения вычислялись по индексу NP Р. Гертвига, взятому из книги Е. де Робертиса, В. Новинского и Ф. Са-

эса [8];  $NP = \frac{V_n}{V_c - V_n}$ , где  $V_n$  — объем ядра,

$V_c$  — объем клетки. Полученные в пределах отдельных слоев данные группировались по классам и представлены на графиках изменения ядерно-плазменных отношений нейронов коры поля  $Ps_1$  в ходе постнатального онтогенеза.

**РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ**

Анализ полученных кривых ядерно-плазменных отношений нейронов показал, что у новорожденных щенят пики кривых всех слоев располагаются в пределах высоких ядерно-плазменных отношений, что отражает значительную незрелость основной массы нейронов каждого слоя коры поля  $Ps_1$

ординат (рис. 1Б; 2А и Б). Максимальная высота пиков в пределах низких ядерно-плазменных отношений — 0,25—0,5, и, следовательно, дефинитивное соотношение размеров ядра и цитоплазмы у основной массы нейронов каждого слоя устанавливается лишь к годовалому возрасту (рис. 3), что

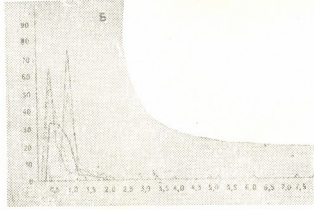
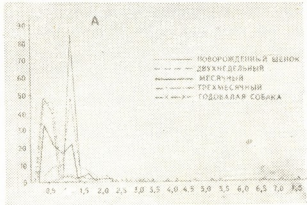


Рис. 1. Послойные изменения ядерно-плазменных отношений нейронов коры поля  $Ps_1$  в процессе постнатального онтогенеза: А—слой II; Б—слой III

в этом возрасте. В то же время различия в расположении пиков кривых отдельных слоев свидетельствуют о разной степени дифференциации нейронов различных уровней коры новорожденных щенят. Так, если у новорожденных щенят пик кривой ядерно-плазменных отношений нейронов слоя II приходится на такие высокие показатели, как 1,0—1,25, то в слое III он располагается в пределах более низких индексов NP — 0,75—1,0; на таком же расстоянии от оси ординат отмечается и основной пик кривой слоя V, но он ниже и кривая имеет значительный сдвиг влево, в сторону низких ядерно-плазменных отношений (рис. 1).

свидетельствует о значительной продолжительности процесса дифференциации структуры корковых нейронов в постнатальном онтогенезе.

На всех этапах постнатального развития кривые ядерно-плазменных отношений нейронов всех слоев имеют выраженные в большей или меньшей степени отклонения от основных пиков, как вправо — в сторону высоких индексов NP, так и влево — в сторону низких показателей (рис. 1—3). Эти отклонения говорят о наличии в пределах каждого слоя исследуемой области коры в одном и том же возрасте некоторого количества нейронов, дифференцированных в большей и меньшей степени по сравнению с основной массой клеток. Довольно значительные у новорожденных щенят отклоне-



ния кривых всех слоев вправо с возрастом уменьшаются и у годовалых животных они уже незначительны, что отражает снижение с возрастом числа слабо дифференцированных нейронов, которые, однако, в малом количестве представлены и в коре годовалых собак во всех слоях, но, особенно, в поздно созревающих.

Таким образом, наши данные о незрелости нейронов коры поля  $Pc_1$  у новорожденных щенят, продолжительности постнатального созревания, гетерохронии дифференциации и гетерогенности нейронного состава каждого слоя в отношении степени зрелости, установленные по особенностям формирования внутренней и внешней

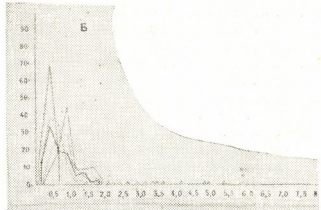
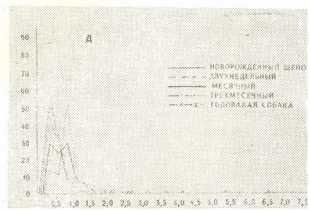


Рис 2. Послойные изменения ядерно-плазменных отношений нейронов коры поля  $Pc_1$  в процессе постнатального онтогенеза: А—слой IV; Б—слой V

Полученные кривые ядерно-плазменных отношений нейронов выявили еще один интересный факт — менее интенсивные темпы постнатального развития нейронов нижнего этажа, успеш-

структуры нейронов во всех изученных возрастных группах, нашли подтверждение в полученных результатах о послойных изменениях ядерно-плазмен-

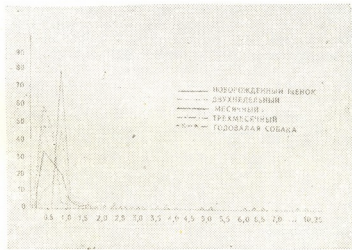


Рис 3. Изменения ядерно-плазменных отношений нейронов слоя VI коры поля  $Pc_1$  в процессе постнатального онтогенеза

ших пренатально пройти определенный путь дифференциации, по сравнению с таковыми нейронов слоев верхнего этажа. В этом отношении наиболее показательны быстрые темпы развития нейронов слоя IV, обособляющегося, согласно нашим данным, наиболее поздно, лишь только ко второй неделе постэмбриональной жизни (рис. 2 Б).

ных отношений нейронов исследованной области коры.

Мы полагаем, что гетерогенность клеточного состава в отношении степени зрелости в постэмбриональном периоде может быть результатом постнатального обогащения коры больших полушарий нервными элементами за счет пролиферации матричных клеток дорсо-латеральной стенки бокового

желудочка и миграции их в кору [5, 7, 14, 16, 17, 19] и, значительно в меньшей степени, в результате пролиферативной активности незрелых корковых нейронов, имеющей место постнатально у незрелорождающихся представи-

телей [5, 7, 12, 13, 18], а также в результате различий в темпах созревания нейронов, относящихся к различным функциональным группам [1, 9, 10].

## ЛИТЕРАТУРА

1. Анохин П. К. В сб.: Очерки по физиологии плода и новорожденного, «Медицина», М., 1966, 9—31.
2. Антонова А. М. Нейроны и межнейрональные связи коры мозжечка неокортекса млекопитающих. Автореф. канд. дисс., М., 1967.
3. Блинков С. М., Глезер И. И. Мозг человека в цифрах и таблицах, «Медицина», Л., 1964, 18—23.
4. Василевский Н. Н., Цветкова И. П. Ж. эволюц. биохим. и физиол., 3, 4, 326—334, 1967.
5. Каландаришвили Э. Л. Тр. Тбил. пед. ин-та, 26 1971, 253—262.
6. Клишев А. А. Арх. анат., 51, 3, 106—109, 1966.
7. Меписавили И. С. Постнатальный нейрогенез и регенераторные возможности центральной нервной системы млекопитающих. Докт. дисс., Тбилиси, 1973.
8. Робертс Е., Новинский В., Сазес Ф. Общая цитология, ИЛ, М., 1962.
9. Сутулова Н. С. Морфологические основы развития рефлекторных центров спинного мозга человека в пренатальном онтогенезе. Автореф. докт. дисс., Астрахань, 1975.
10. Шулейкина К. В. Арх. анат., 36, 5, 42—54, 1959.
11. Щелкунов С. Н. Тр. техн. симп. Всес. науч. общ. анат., гист. и эмбриол., Смоленск, 1969, 45—46.
12. Altman J. Develop. Neurobiol., 197—237, 1970.
13. Altman J., Das G. J. Comp. Neurol., 126, 3, 337—390, 1966.
14. Butler A. B., Caley D. W. Brain Res., 44, 1, 83—97, 1972.
15. Cučik R., Malinsky J. Acta Univ. Palac. Olomuc. Fac. Med., 64, 19—26, 1972.
16. Hicks S. P., D'Amato C. J. Anat. Rec., 160, 3, 619—634, 1968.
17. Kircshe W., Kunz G., Wenzel J., Wenzel M., Winkelmann A. J. Hirnforsch., 14, 1—2, 117—135, 1973.
18. Ovcharov V. A. Докл. Болг. АН, 27, 3, 419—422, 1974.
19. Shimada M., Langman J. J. Comp. Neurol., 139, 2, 227—243, 1970.
20. Tomasch J., Ebnessajjade D. Anat. Rec., 141, 3, 247—252, 1961.

ძალის დიდი ტვინის ქირპის ნეირონების ბირთვულ-პლაზმური თანაფარდობის ცვლილება კოსტნატალური მონტოპენის პროცესში

ი. ხარაბაჟა, ც. მიფლავაშვილი

ა. ჭუშინის სახელობის პედაგოგიური ინსტიტუტი, თბილისი

## რეზიუმე

სხვადასხვა ასაკის ლეკებისა და ერთწლიანი ძაღლების ქერქული ველის  $PC_1$  ცალკეული შრეების ნეირონების ბირთვულ-პლაზმური თანაფარდობის შესწავლით გამოირკვა, რომ ახალშობილი ცხოველების ნეირონების ბირთვულ-პლაზმური თანაფარდობა მაღალია და ეს ნეირონები, შესაბამისად, მნიშვნელოვნად მოუმ-

წიფებელი არიან. ნეირონების დიფერენცირების პროცესში ბირთვულ-პლაზმური თანაფარდობა თანდათან კლებულობს და დეფინიტურ მაჩვენებლებს მხოლოდ ერთი წლის ასაკში აღწევს.

სხვადასხვა ასაკის ცხოველების ნებისმიერ ქერქულ შრეში განსხვავებული ბირთვულ-პლაზმური მაჩვენებლების მქონე

ნეირონების არსებობა კარგი საბუთია იმ ჩვენი დებულების სასარგებლოდ, რომ ნეოკორტიკალური ნეირონების პოსტნატალური დიფერენცირება ჰეტეროქრონულად ხდება.

ბიოთოვულ-პლაზმური თანაფარდობის მაჩვენებელთა შესწავლით გამოჩვენდა,

რომ ახალშობილი ცხოველების ჰეტეროქრონულ შრეებს მომწიფების მაღალი ხარისხი ახასიათებს და რომ ზედა შრის ნეირონების პოსტნატალური დიფერენცირება უფრო სწრაფი ტემპით მიმდინარეობს.

## CHANGES OF THE NUCLEAR-PLASMA RELATIONS OF THE DOG'S CEREBRAL CORTEX IN THE PROCESS OF POSTNATAL ONTOGENESIS

I. G. KHAREBAVA, C. G. MEDULASHVILI

A. S. Pushkin Pedagogic Institute, Tbilisi, USSR

### Summary

Layer to layer analysis of the nuclear-plasma relations of the  $Pc_1$  cortical area neurons in the puppies of various breed led to the conclusion that the neurons of the newborn animals are characterized by high indices of nuclear-plasma relations, and, hence, by significant degree of immaturity. In the process of neuron differentiation nuclear-plasma relations are gradually decreased reaching their final values by the end of the first year of life only, indicating the establishment of the definitive correlation between the nucleus size and cytoplasm by this age.

The presence of age-dependent neuron correlation between the different nuclear-plasma relation indices confirms our statement concerning heterochronous character of the neocortical neuron postnatal differentiation.

In addition, the indices of the nucleus-plasma relations reflect the higher degree of the lower layer neuron maturity in the newborn puppies at all stages of the brain development as well as more accelerated neurogenesis of the upper layers.

УДК 581.522.4

ЭКОЛОГИЯ

## ОСОБЕННОСТИ ФИТОКЛИМАТА, СОЛНЕЧНОЙ РАДИАЦИИ И ТЕПЛООВОГО РЕЖИМА ДВУХ ЭКОСИСТЕМ АЛЬПИЙСКОГО ПОЯСА ЦЕНТРАЛЬНОГО КАВКАЗА

Г. Ш. Нахуцишвили, А. Чернуска, М. Зебер

Институт ботаники АН ГССР, Тбилиси  
Институт ботаники Университета Инсбрука

Поступила в редакцию 03.12.1981

В экосистемах альпийского пояса Центрального Кавказа структура фитоценоза оказывает решающее влияние на их микроклимат, биоклимат и обмен энергии. В обих исследованных нами растительных сообществах (антропогенный и заповедный фитоценозы) обнаруживается двухслойная структура. Верхняя часть фитоценоза очень ветреная, сухая и относительно прохладная, а нижняя половина характеризуется незначительной скоростью ветра и является теплой и влажной. Обнаружены существенные экологические различия между антропогенным (*Caricetum*) и заповедным (*Nardetum*) фитоценозами. Установлено также поразительное экологическое сходство между *Caricetum tristis*—на Кавказе и *Caricetum curvulae*—в Альпах.

Растительный покров высокогорных экосистем Центрального Кавказа в результате хозяйственной деятельности человека существенно видоизменен. В частности, вслед за изменением геометрической структуры травостоя значительно меняется микроклимат, радиационный и тепловой режимы фитоценозов, усиливаются аэродинамические процессы.

Цель наших исследований — экологический анализ влияния деятельности человека на высокогорные экосистемы. В настоящем сообщении мы публикуем часть материалов из тех комплексных работ, которые проводятся нами вместе с австрийскими экологами.

Объектами исследования являлись широко распространённые на Центральном Кавказе, и в частности в районе Казбеги, сообщества: *Carex tristis-Cotresia capillifolia* (*Caricetum*) и *Nardus glabriculumis-Deschampsia caespitosa* (*Nardetum*). Оба фитоценоза представлены в альпийском поясе (2600 м над у. м.) Казбеги (42°42' с. ш. 44°39' в. д.). Первый из них расположен на

на гребне хребта с небольшим уклоном (10°) на ЮВ; стравливается интенсивно. Второе сообщество приурочено к склону ЮВ экспозиции с уклоном 20°; не стравливается [1].

Для измерения микроклимата (температура и влажность воздуха и почвы, температура листа) были использованы два прибора, которые автоматически, через каждые 5 мин, регистрировали одно измерение (всего 24 величины). Отдельные показатели автоматически переносились на компьютер, который усреднял все данные, полученные в течение часа и дня [2].

Суммарная солнечная радиация измерялась звездным пиранометром (*Sternpyranometer*, фирма (Ф. Schenk, Австрия), баланс радиации — радиационным балансометром (Ф. Schenk, Австрия), физиологически активная радиация (ФАР) — фотонным потоком (Ф. Lambda, Линкгольн, Небраска, США).

Наблюдения над скоростью ветра проводились в хорошую погоду при фенах с помощью шести контактных



анемометров (Ф. Rinko, Австралия). Среднедневные показатели на высоте 2 м равнялись  $3,5 \text{ мс}^{-1}$  в Caricetum и  $3,2 \text{ мс}^{-1}$  в Nardetum. В Caricetum над поверхностью ценоза (на высоте 6 см) скорость ветра уменьшается на 39%, а в Nardetum (на высоте 34 см) — на 44% от величины на высоте 2 м. Отсюда вытекает, что в хорошую погоду в Caricetum, так же как и в Nardetum, среднедневная скорость ветра над сообществом равна 2,3 мс. Таким образом, выясняется, что Caricetum, вследствие низкорослой формы роста слагающих растений, не подвергается влиянию большей скорости ветра, чем Nardetum, несмотря на то, что первый расположен в условиях выпуклой формы рельефа, а второй защищен от ветра в ложбине.

1 см слой сообщества и поверхности почвы представляет собой «активную поверхность» в отношении теплообмена. Так, например, среднее значение температуры на поверхности почвы выше температуры воздуха на двухметровой высоте на  $9,4^\circ\text{C}$ , а на высоте 1 см травостоя — на  $10,5^\circ\text{C}$ . Максимальное значение температуры на поверхности почвы на  $29^\circ\text{C}$  выше температуры воздуха на высоте 2 м. В Nardetum перегрев явно меньше, так как здесь солнечная энергия распределяется среди существенно большей растительной массы. В этом ценозе самый большой перегрев отмечается в нижнем 3 см слое. Примечательно, что в Nardetum на поверхности почвы максимальная температура наступает на 2 ч позже, чем в 3 см слое. Средняя за день температура травяного покрова в этом самом нижнем слое —  $6,7^\circ\text{C}$ , а температурный максимум — на  $19,4^\circ\text{C}$  выше, чем на высоте 2 м над фитоценозом. Бросается также в глаза, что температурный максимум на поверхности почвы в Nardetum наступает на 2 ч позже, чем в 3 см слое над почвой. Такая задержка вызвана толстым, очень теплопроводным слоем детрита, который столь характерен для Nardetum.

По показателям температуры листьев в обоих ценозах хорошо выделяются два слоя. В самом жарком нижнем слое (от 0 до 1 см в Caricetum и от 0 до 5 см в Nardetum) температура листа ниже, чем температура воздуха.

Так, например, в среднем за день в Caricetum на высоте травостоя 0,5 см наблюдается охлаждение листьев на  $1,3^\circ\text{C}$ . Во втором, расположенном выше, слое фитоценоза, благодаря сильному воздействию ветра, отмечается высокая турбулентность воздуха. Здесь температура листа очень близка температуре воздуха (например: температура листьев в Caricetum на высоте 3 см в среднем за день лишь на  $0,1^\circ\text{C}$  выше температуры воздуха).

Влажность воздуха и особенно градиент давления водяного пара между листьями и окружающей средой представляют очень важный фактор для функционирования многих экосистем. В Caricetum, по данным показателям, четко выделяется двухго-

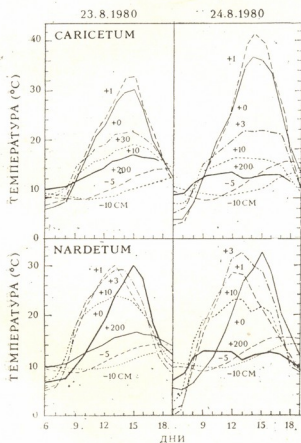


Рис. 1. Дневные изменения температур воздуха и почвы в двух рядах расположенных экосистемах

На рис. 1 изображены характерные для изучаемых сообществ дневные изменения температур воздуха и почвы. На обоих участках в хорошую погоду внутри ценоза происходит значительное повышение температуры. В Caricetum самый нижний 0,5—

ризонгальная структура. Верхний слой (выше 2 см) очень сильно подвержен влиянию ветра и сухого воздуха. С 13 до 14 ч на 3 см высоте дефицит давления водяного пара здесь очень высок — 37,6 мбар. Нижний слой, наоборот, существенно более влажный, безветренный, растения здесь не подвержены высокому градиенту влажности. Так например, на 1 см над поверхностью почвы дефицит водяного пара составляет только 17,2 мбар.

В изученных нами растительных сообществах в структурно-функциональном отношении четко выделяются два совершенно различных горизонта — нижний (0—1 см для Caricetum и 0—5 см для Nardetum) и верхний (выше этих высот). Первый из них отличается незначительной скоростью ветра, высокой температурой и влажностью воздуха, более низкой температурой листа, чем температура воздуха, низким дефицитом водяного пара. Второй, верхний, горизонт характеризуется большей скоростью ветра, сухостью, сравнительно низкой температурой, малой разницей между температурой листа и воздуха, высоким дефицитом водяного пара.

В отличие от Nardetum, который не подвержен сгравливанню, для Caricetum характерны: сильно выраженные вблизи поверхности почвы (на 0,5—1,0 см) аэродинамические процессы, значительный перегрев приповерхностно-подземного горизонта и самого нижнего слоя (0,5—1 см) сообщества, что следует объяснять экстенсивным использованием (сгравливанием) этого участка.

в экосистемах теплового баланса и водного обмена особенно большое значение придается при исследовании сообществ, не использующих полностью поступающую радиацию. К таким экосистемам, в первую очередь, следует отнести высокогорные луга Центрального Кавказа.

В хорошую погоду от 6 до 18 часов в альпийском поясе суммарная радиация (G) составляла 562 кал.см<sup>2</sup> мин (в Caricetum — 21,9%; в Nardetum — 19,2%). Данные альбедо в Caricetum близки к данным, полученным в Caricetum curvulae в Тирольских Альпах, где альбедо составляло 22% [2].

В виде баланса радиации (Q) поглощается: в Caricetum — 358, а в Nardetum — 338 кал.см<sup>2</sup> мин и добавляется к тепловому балансу. Это составляет для Caricetum 64% и для Nardetum 60% от падающей суммарной радиации.

Из падающей на сообщества ФАР (табл. 1) наибольшее количество поглощается фотосинтетически неактивными частями растений (особенно на пастбище). Caricetum, в отличие от Nardetum, отражает значительно меньше ФАР, а ассимилирующие части растений пастбища поглощают в два раза меньше ФАР, чем те же части листьев заповедника. Почва обоих участков поглощает наименьшее его количество.

Как видно из рис. 2, в Caricetum в хорошую погоду 44% поглощенной в экосистеме солнечной энергии используется на эвапотранспирацию, 40,7% — на обогрев воздуха и 15,3% — на обогрев почвы. Эвапо-

Таблица 1  
Распределение ФАР (в %) в сообществах Caricetum и Nardetum

Сообщества	Падающая радиация	Отраженная радиация	Фотосинтетически активные части растений	Фотосинтетически неактивные части	Почва
Caricetum	100	8,3	14,4	73,3	4,0
Nardetum	100	13,3	31,3	52,0	3,4

Показатели фитолимата сообщества Caricetum в условиях Кавказа весьма сходны с аналогичными показателями Curvuletum (Carex curvula) в Альпах [2].

Изучению солнечной радиации как источника энергии для поддержания

транспирация (V) на данном участке равна 2,6 мм. В Nardetum эвапотранспирация выше — 3,5 мм. Здесь же 62,5% солнечной энергии расходуется на испарение воды, 28,7% — на обогрев воздуха и 8,8% — на обогрев почвы.

С помощью так называемого отношения Боуэна [3] можно проанализировать глубже тепловой режим обеих экосистем. Для *Caricetum* среднедневные отношения Боуэна ( $B$ ) составляют 0,93, что очень приближается к аналогичному показателю на Хохе-Таурне (Тирольские Альпы) в *Caricetum curvulae* [2]. Для *Nardetum* отношение Боуэна почти в два раза меньше (0,46). Причиной относительно высокого отношения Боуэна в *Caricetum* является не сухость экотопа и плохое обеспечение растений влагой, а незначительная наземная масса и связанная с ней низкая транспирация.

Интересно также то, что в *Nardetum* в течение дня отношение Боуэна сильно увеличивается. Так например, в хорошую погоду оно повышалось от 0,25 (в 8 ч) до 0,61 (в 16 ч). Это объясняется сильным увеличением ошутимого теплового потока — конвекции и одновременно снижением эвапотранспирации в течение дня. Данная закономерность могла бы указывать на существенное ухудшение водного обеспечения растительности в *Nardetum*. Однако одновременные наблюдения с помощью порометра не показали ограничения в открытии устьиц. Поэтому уменьшение эвапотранспирации объясняется сильным испарением утром (до 10 ч) росы и сильным уменьшением испарения с поверхности почвы в более поздние часы дня.

В *Caricetum*, наоборот, в относительно безветренную погоду от 8 до 11 ч отношение Боуэна сильно редуцировано. Однако в такую же хорошую погоду это отношение уже в 8 ч достигает величин выше 0,6. В этот день в *Caricetum* никакой росы не наблюдается. Сообщество уже с раннего утра поверхностно сухое.

Поток тепловой энергии в почве в *Caricetum* почти в два раза больше, чем в *Nardetum* (рис. 2). Это пока-

зывает, что в *Caricetum* относительно большая часть радиации поглощается нижними слоями сообщества (0—5 см) и поверхностью почвы. В *Nardetum* поглощение радиации происходит в верхних слоях сообщества; к тому же для *Nardetum* характерен толстый слой детрита, который значительно уменьшает теплопроводимость почвы.

Исходя из всего вышесказанного, можно заключить, что в горах, и особенно выше границы леса, на микроклимат, климат травяного фитоценоза и энергообмен экосистемы решающее влияние оказывает прежде всего структура фитоценоза (расслоение

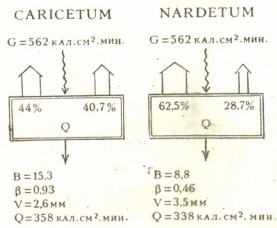


Рис. 2. Модель распределения солнечной энергии в изученных экосистемах

фитомассы, в частности распределение листьев, высота растений). В обоих исследованных экосистемах обнаруживается двухслойная структура. Верхняя половина фитоценоза очень ветреная, сухая и относительно прохладная, а нижняя характеризуется незначительной скоростью ветра, теплая и влажная. Вместе с тем установлено поразительное сходство структуры фитоценоза, микроклимата и энергообмена между исследованным *Caricetum tristis* на Кавказе и *Caricetum curvulae* в Центральных Альпах [2].

ЛИТЕРАТУРА

1. Нахуцришвили Г. Ш., Чхиквадзе А. К., Хедуриани Л. Д. Продуктивность высокогорных травяных сообществ

Центрального Кавказа, «Мещиереба», Тбилиси, 1980.

ცენტრალური კავკასიონის ალპური სარტყლის ორი ეკოსისტემის ფიტოკლიმატის, მზის რადიაციისა და სითბური რეჟიმის თავისებურებები

ზ. ნახუტჩიშვილი, ა. ჩერნუსკა, მ. ზებერი

საქართველოს სსრ მეცნიერებათა აკადემიის ბოტანიკის ინსტიტუტი, თბილისი, ინსბრუკის უნივერსიტეტის ბოტანიკის ინსტიტუტი

რ ე ზ ი უ მ ე

შესწავლილ იქნა ცენტრალური კავკასიონის ალპური სარტყლის ნაკრძალი და ანთროპოგენული ეკოსისტემები. გამოიკვია, რომ ისინი ეკოლოგიური თავისებურებებით მკვეთრად განსხვავდებიან ერთმანეთისაგან. ეკოსისტემის ენერჯის ცვლას, მიკრო და ბიოკლიმატს ძირითადად

ფიტოცენოზის სტრუქტურა განსაზღვრავს. ორივე ეკოსისტემაში ფიტოცენოზს ორ-შრიანი სტრუქტურა აქვს. ფიტოცენოზს ზედა ნაწილი ძლიერ ქარიანია, შედარებით ცივი და მშრალია, ხალო ქვედა — უქარო, თბილი და ნესტიანია.

## PHYTOCLIMATE. SOLAR RADIATION AND TEMPERATURE RATE OF THE TWO ECOSYSTEMS OF ALPINE BELTS OF THE CENTRAL CAUCASUS

G. Sh. NAKHUTSRISHVILI, A. CERNUSKA, M. SEBER

Institute of Botany, Georgian Academy of Sciences, Tbilisi, USSR  
Institute of Botany of Innsbruck University, Austria

### Summary

In ecosystems of Alpine belts the structure of phytocenosis exerts a decisive influence upon their microclimate, bioclimate and energy exchanges. In both (anthropogenic and reservation) ecosystems which were investigated by us, twolayer structure was discovered. The upper part of phytocenosis is very windy, dry and relatively cool. while the lower

part is characterized by little windspread warmth and humidity. A substantial ecological difference was discovered between the anthropogenic (Caricetum) and reservation (Nardetum) phytocenosis. A striking ecological likeness was found between Caricetum tristis in the Caucasus and Caricetum curvulae in the alpes.



УДК 576.8:553.061.15

МИКРОБИОЛОГИЯ

## ТОКСИЧЕСКИЕ ВЕЩЕСТВА РАЗЛАГАЮЩИХСЯ КОРНЕЙ ПШЕНИЦЫ В РЕГУЛИРУЕМЫХ УСЛОВИЯХ

Е. И. Ермаков, Ю. И. Возняковская, Л. Г. Картвелишвили

ВНИИ сельскохозяйственной микробиологии, Ленинград

Кавказский институт минерального сырья Министерства геологии СССР, Тбилиси

Поступила в редакцию 16.12.1981

Выращивание растений пшеницы в искусственно регулируемых условиях позволило проследить изменение их продуктивности в разных вариантах опыта в течение 4-х вегетаций.

Показано, что при выращивании растений как в керамзите, так и в почве происходит резкое снижение урожая, в субстрате накапливаются продукты разложения корневых остатков, в том числе фенольных соединений. В составе последних обнаружены фитотоксические фенолкарбоновые кислоты. В изучаемых вариантах создавались условия для размножения грибов, вызывающих корневые гнили.

При бессменных посевах зерновых культур часто наблюдается снижение урожая. В настоящее время установлен ряд причин этого явления [1].

В качестве одного из основных факторов почвоутомления при монокультуре пшеницы можно считать нарушение биологического равновесия почвы, которое проявляется в угнетении бактерий и повышении численности грибов [2]. Вследствие этого снижается биологическая активность почвы, происходит накопление вредных микробных метаболитов и фитотоксических продуктов разложения растительных остатков [6, 12].

Одним из важных компонентов, накапливающихся при разложении растительных остатков, являются фенольные соединения, многие из этих веществ могут быть токсичными для растений и микроорганизмов [10].

Установлено, что при разложении пожнивных остатков пшеницы образуются токсические соединения, которые играют важную роль и в этиологии заболевания корней [9, 13].

Отмечено явление снижения урожая пшеницы при непрерывном выращивании растений на искусственном субстрате в регулируемых условиях, что

свидетельствует об общности причин, вызывающих уменьшение продуктивности растений в монокультуре, как в полевых условиях, так и в фитотронах [5].

Целью данной работы явилось изучение фитотоксических веществ, накапливающихся в субстрате при неоднократном повторном выращивании на нем пшеницы в регулируемых условиях с использованием интенсивной светотеплицы. Это позволяет уточнить исследования по важной проблеме — снижению урожая зерновых в монокультуре.

Растения яровой пшеницы сорта *Siete cerros* выращивали в оптимальных условиях минерального питания, температуры, влажности и освещения на осветительной установке АФИ под лампами накаливания с проточным водяным светофильтром.

Продолжительность освещения составляла 16 ч, температура воздуха днем была  $25^{\circ} \pm 1^{\circ} \text{C}$ , ночью —  $23^{\circ} \pm 1^{\circ} \text{C}$ , относительная влажность поддерживалась в пределах 75%.

Растения выращивали в трехлитровых сосудах, наполненных керамзитом (размер частиц 2—5 мм), и слабокультуренной дерново-подзолистой

почве (содержание гумуса — 0,7%, pH 5,0). Керамзит дважды в сутки увлажняли питательным раствором Кюпа. В почву вносили эквивалентное количество удобрений.

В опыты были включены следующие варианты выращивания пшеницы: I — на керамзите; II — на почве; III — на керамзите, который после каждой вегетации подвергали промыванию 0,3%-ным раствором едкого калия с последующей нейтрализацией щелочи раствором кислоты [4]; IV — то же, но из керамзита предварительно удаляли корневые остатки.

Продолжительность вегетации до созревания зерна составляла 60—65 суток.

Исследования проводили на протяжении четырех вегетаций. В конце каждой вегетации учитывали вес зерна и надземной массы растений, изучали токсичность субстратов и питательного раствора. Для определения фитотоксичности субстратов из них готовили вытяжки, которыми обрабатывали корешки проростков кукурузы [3].

Для выявления наиболее токсичных компонентов разлагающихся растительных остатков пшеницы — фе-

нолкарбоновых кислот, в субстратах проводили экстракцию диэтиловым эфиром по методу Ванг и др. [11]. Состав компонентов кислой эфирной фракции в вытяжках разных вариантов опыта изучали методом тонкослойной хроматографии. Разделение веществ проводилось в смеси бензолдиоксан-уксусная кислота (90:25:5). Для проявления пятен использовали цветные реакции: с диазотированной сульфаниловой кислотой (ДСК), диазотированным п-нитроанилином с последующей обработкой раствором соды, 1%-ный раствор  $FeCl_3$  [8].

Токсичность элюатов из пятен, обнаруженных на хроматограмме, определяли методом биопроб.

Общее количество фенольных соединений в вытяжках, после их осветления центрифугированием, определяли общепринятым методом с реактивом Фолина-Чекольте на приборе ФЭК-56М.

Для учета степени поражения растений корневыми гнилями заболевания оценивали по 4-балльной шкале; развитие болезни рассчитывали в процентах по общепринятой формуле [7].

### РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

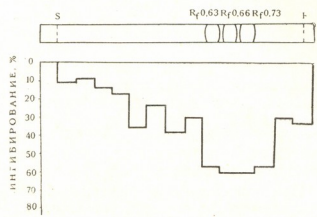
Результаты проведенных исследований выявили тесную взаимосвязь между содержанием корневых остатков и токсичностью субстратов.

Наиболее высокая фитотоксичность субстрата обнаружена после четырех

татки не удаляли, и в почве, где происходило накопление и разложение пожнивных остатков пшеницы. В вариантах с удалением после каждой вегетации корней и при щелочной обработке субстрата токсичность была значительно ниже.

Наибольшая фитотоксичность субстратов при ее определении методом биотестов обнаружена в тех вариантах, в которых накапливалось наибольшее количество фенольных веществ. Общее количество фенолов по мере старения субстрата в присутствии корневых остатков постепенно возрастало, с 2% в начале опыта до 49% после 4-го оборота. В то же время в вариантах с удалением корней и щелочной обработкой керамзита общее количество фенолов было невысокое (210—120  $\mu\text{кг}/100$ ). Это совпадало и с низкой фитотоксичностью субстратов (табл. 1).

При изучении состава токсических веществ, методом тонкослойной хроматографии кислой эфирной фрак-



1. Биоавтограмма кислой эфирной фракции разлагающихся пожнивных остатков пшеницы

вегетаций пшеницы на керамзите в вариантах, в которых корневые ос-

ции, экстрагированной из керамзита, взятого после четырех вегетаций растений, было обнаружено 14 пятен фенольных соединений. После исследования элюатов из этих пятен методом биотеста 4 пятна оказались с фитотоксической активностью. Сравнение этих веществ с метчиками (чистыми препаратами фенолкарбоновых

значительное снижение на керамзите с 19,4 г/сосуд до 5,0 г; на почве — с 10,1 г до 5,7 г/сосуд

В вариантах с удалением корней и щелочной промывкой снижение урожая было незначительным — с 19,4 до 16,4—16,8 г/сосуд.

Как показали исследования, продуктивность пшеницы зависела не

Таблица 1  
Урожай и токсичность субстратов после 4-кратного выращивания пшеницы

Фон выращивания	Обороты субстрата											
	I			II			III			IV		
	Урожай, г	Фенолы, мкг	Токсичность, %	Урожай, г	Фенолы, мкг	Токсичность, %	Урожай, г	Фенолы, мкг	Токсичность, %	Урожай, г	Фенолы, мкг	Токсичность, %
Керамзит	18,3	120	2	15,0	275	9	11,0	300	27	5,3	420	49
Почва	10,5	150	4	9,7	160	11	12,8	450	39	6,2	250	47
Керамзит после щелочной регенерации	19,6	—	—	21,7	50	5	19,6	150	10	18,4	210	30
То же с удалением корневых остатков	20,0	—	—	16,0	—	4	17,9	120	8	18,2	120	9
R <sub>f</sub> %	5,8			5,6			4,1			4,8		
HCP 0,05	6,0			5,1			3,8			3,4		

кислот) по величине R<sub>f</sub>, по флюоресценции в УФ-свете, в парах аммиака и по цветным реакциям дало возможность идентифицировать их как фенолкарбоновые кислоты: п-кумаровая

только от накопления токсических веществ, но и от условий, способствующих увеличению численности фитопатогенных грибов, которые размножались наряду с сапрофитными видами.

Таблица 2  
Степень поражений растений корневыми гнилями

Вариант	Фон выращивания	Развитие болезни, %	Распространенность болезни, %
I	Керамзит	32	90
II	Почва	23	70
III	Керамзит после щелочной регенерации	21	60
IV	То же с удалением корневых остатков	10	45

R<sub>f</sub> — 0,63; феруловая R<sub>f</sub> — 0,66; ванилиновая R<sub>f</sub> — 0,73. Четвертое вещество не идентифицировано R<sub>f</sub> — 0,83 (рисунок).

Учет урожая на протяжении четырех вегетаций пшеницы на керамзите и почве показал его постепенное

Оценка степени поражения растений корневыми гнилями показала, что процент развития и распространенности болезни был выше в вариантах с корневыми остатками, чем без корней и при щелочной регенерации субстрата. При бессменном выращивании в

керамзите корневыми гнилями было поражено 90% растений, а при удалении корней из субстрата — 45% (табл. 2).

Таким образом, выращивание растений пшеницы в искусственно регулируемых условиях позволили проследить изменения продуктивности растений в разных вариантах опыта в течение 4-х вегетаций. Было показано, что при выращивании растений как в керамзите, так и в почве происходит резкое снижение урожая, в субстрате накапливаются продукты разложения корневых остатков, в том числе фенольных соединений. В составе последних обнаружены фито-

токсичные фенолкарбоновые кислоты. В этих вариантах опыта создавались условия для размножения грибов, в том числе вызывающих корневые гнили.

Использование метода выращивания пшеницы в искусственных условиях позволило установить причины снижения урожая пшеницы при непрерывном выращивании растений на одном и том же субстрате. Полученные данные свидетельствуют об общности причин, вызывающих уменьшение продуктивности растений в монокультуре, как в полевых условиях, так и в фитотроне.

ЛИТЕРАТУРА

1. Гродзинский А. И. Аллелопатическое почвоутомление, «Наукова думка», Киев, 1979.
2. Берестецкий О. А., Возняковская Ю. М., Попова Ж. П. Микробиология, 6, 991—993, 1980.
3. Берестецкий О. А. Микробиол. журнал, 34, 6, 798—800, 1972.
4. Ермаков Е. И. Доклады ВАСХНИЛ, 8, 4—7, 1973.
5. Ермаков Е. И. В кн.: Искусственный климат для растениеводства и селекции, «Колос», Л., 1978, 153—170.
6. Константинова К. Почвоведение и агрохимия, 15, 1, 86—91, 1980.
7. Коршунова А. Ф., Чумаков А. Е., Щекочихина Р. И. В сб.: Защита

- пшеницы от корневых гнилей, «Колос», Л., 1976, 103—105.
8. Прусакова А. Д. В сб.: Методика определения регуляторов роста и гербицидов, «Наука», М., 1966, 44—45.
9. Сидоренко О. Д., Нице Л. К. Использование соломы как органического удобрения, «Наука», М., 1980.
10. Börgner H. Bot. Rev., 26, 393—424, 1960.
11. Thomas S. C., Wang T., Tze Ken Yang, Tzetang Chuang. Soil Sci., 103, 4, 239—247, 1967.
12. Duran I., McCalla T. U. S. Department of Arg., 57, 1—7, 1977.
13. Койнов Георги. Селекостопанска наука, 18, 6, 74—84, 1980.

ხორბლის ლკობადი ფესვების ტოქსიკური ნივთიერებანი ხელოვნურად რეგულირებადი ზრდის პირობებში

ა. შამაკოვი, ი. შოხნიაკოვსაია, ლ. კახთავლიშვილი

სასოფლო-სამეურნეო მიკრობიოლოგიის საკავშირო სამეცნიერო-კვლევითი ინსტიტუტი, ლენინგრადი  
სსრკ გეოლოგიის სამინისტროს კავკასიის მინერალური ნედლეულის ინსტიტუტი, თბილისი

რეზიუმე

ხელოვნურად რეგულირებადი ზრდის პირობებში ხორბლის გაზრდა საშუალება მოგვცა დავევირეებოდით მცენარის პროდუქტიულობის ცვლილებას ცდის სხვადასხვა ვარიანტში, 4 ვეგეტაციის განმავლობაში.

აღმოჩნდა, რომ როცა მცენარე იზრდება გინდ კერამზიტში და გინდ ნიადაგში, მოსავალი მკვეთრად ეცემა, ხოლო სუბსტრატში გროვდება ნარჩენი ფესვების ხრწნის პროდუქტები, მათ შორის ფენოლური შენაერთები. ამ უკანასკნელთა შე-



მადგენლობაში აღმოჩნდა ფიტოტოქსიკური ფენოლკარბონის მჟავები. შესასწავლ ვარიანტებში ისეთი პირობები იქმნებოდა, რომ მრავლებოდა ფესვთა ლობინი და მომწვევი სოკოები.

## TOXIC SUBSTANCES OF WHEAT DECOMPOSED ROOTS IN REGULATED CONDITIONS

E. I. ERMAKOV, Ju. I. VOZNIKOVSKAYA, L. G. KARTVELISHVILI

All-Union Scientific Research Institute of Agricultural Microbiology, Leningrad  
Caucasian Institute of Mineral Resources, USSR Ministry of Geology, Tbilisi

### Summary

Growth of wheat plants in the artificially regulated conditions allowed to follow changes of plant productivity in various versions of experiment during four vegetations.

It is shown that during the growth of plants, both in keramzite and in soil, a sharp decrease of crop takes place; pro-

ducts of desomposition of root remnants, including phenolic compounds accumulate in substrate. Phytotoxic phenolcarmonic acids are discovered in the composition of the latter.

In the investigated version the conditions were created for reproduction of root rotting fungi.

УДК 547.963.3

БИОФИЗИКА

## ТЕПЛОВАЯ ДЕНАТУРАЦИЯ РЕКОНСТРУИРОВАННЫХ НУКЛЕОГИСТОНОВ И ВЛИЯНИЕ УЛЬТРАЗВУКА НА ПАРАМЕТРЫ ПЛАВЛЕНИЯ

И. Ш. Мегрелишвили, Л. М. Шеварнадзе, В. В. Герасимов,  
М. М. Заалишвили

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

Поступила в редакцию 07.01.1982

Проведено параллельное спектрофотометрическое и микрокалориметрическое исследование тепловой денатурации реконструированных комплексов ДНК тимуса теленка с основными фракциями гистонов Н1, Н2А, Н2В, Н3 и Н4. Комплексы характеризуются различающимися друг от друга кривыми плавления; кроме того, спектрофотометрические кривые плавления отличаются от калориметрических. Для всех нуклеогистонов характерна меньшая теплота плавления по сравнению с ДНК и большая, примерно на 1,5 кДж/мпо-град, теплоемкость денатурированного состояния по сравнению с нативным. Обработка комплексов ультразвуком приводит к исчезновению этой разности теплоемкостей и агрегационной способности, характерной для некоторых нуклеогистонов.

Интерес к исследованию нуклеопротеидных комплексов обусловлен той большой ролью, которую они играют в процессах жизнедеятельности эукариот. Так, гистоны Н2А, Н2В, Н3 и Н4 в растворе с ДНК образуют упорядоченную пространственную структуру, называемую нуклеосомной короной частицей [14, 19, 24]; в образовании структуры более высокого порядка, подобной хроматину, принимает участие гистон Н1 [2, 10]. Но роль гистоновых белков не ограничивается структурными функциями — они принимают участие в регуляторном механизме, обеспечивающем функционирова-

ние одних генов и блокирование других [1, 7]. При этом различные участки ДНК могут как-то «демаскироваться» и становиться доступными для транскрипции [4, 15].

В данной работе проведено исследование тепловой денатурации комплексов ДНК тимуса теленка с основными фракциями гистонов и изменение термодинамических параметров этих комплексов при воздействии ультразвука. Полученные результаты дают возможность оценить степень стабилизации структуры ДНК+гистон и выявить определенные закономерности в структуре нуклеогистонов.

### МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

В экспериментах использовалась коммерческая ДНК из тимуса теленка («Serga», Feinbiochemica), пересаживаемая в этиловый спирт, и гистоны из тимуса теленка (Sigma Chemical Co.). Для получения комплексов ДНК и гистон смешивались в 2М NaCl; полученную смесь подвергали градиентному диализу против раство-

ров NaCl с постепенно уменьшающейся ионной силой. Конечная стадия диализа проводилась против 1 мМ NaCl в течение 18 ч; затем раствор центрифугировали 45 мин при 2000 об/мин. Весовое соотношение гистон:ДНК = р определялось после измерения концентраций ДНК и гистона в растворе. Концентрация ДНК определялась

спектрофотометрическим методом [21], концентрация гистона — по Лоури [13].

Ультразвуковая обработка препаратов проводилась в течение 10 мин при мощности 6 Вт/см<sup>2</sup> магнитострикционным диспергатором УЗДН-1 с частотой 22 кГц. Для исключения тепловых эффектов ультразвука пробирка с озвучиваемым раствором интенсивно омывалась холодной водой, и после 30 с озвучивания следовал перерыв такой же длительности. Как растворы препаратов, так и сам растворитель после воздействия ультразвука ни по рН,

ни по теплоемкости от исходных практически не отличались.

Калориметрические измерения проводились на дифференциальном адиабатическом микрокалориметре ДАСМ-1м [18], спектрофотометрические — регистрировали на Specord UV-Vis (Carl Zeiss, Jena, DDR). Скорость нагревания образцов во всех случаях — 1 град/мин, концентрация ДНК в калориметрических опытах ~500 мкг/мл, в оптических — 30—35 мкг/мл. Погрешность калориметрических измерений ~5%.

## РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

На рис. 1 а представлена дифференциальная кривая плавления раствора ДНК в ультрафиолетовой части спектра. Анализ кривой дает интервал плавления  $\Delta T = 35^\circ\text{C}$ , степень гиперхромизма

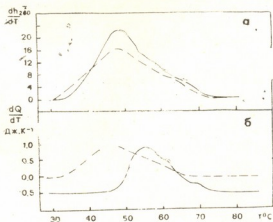


Рис. 1. Дифференциальная спектрофотометрическая (а) и микрокалориметрическая (б) кривые плавления ДНК: нативной — сплошная линия и обработанной ультразвуком — пунктир

$= 24\%.$   $\Delta T_2 = 16^\circ\text{C}$  и  $\Delta T_3 = 17^\circ\text{C}$  [3, 4]. Общий интервал плавления увеличивается —  $\Delta T = 57^\circ\text{C}$ , гиперхромизм остается постоянным и равен  $\Delta h = 40\%$ , как и для нативной ДНК, что хорошо согласуется с данными Субираны [20] и Ли [12]. Озвученный нуклеогистон Н1—ДНК (в отличие от ДНК) начинает плавиться позже, а температуры, характеризующие различные стадии тепловой денатурации, меняются сложным образом. Так, если  $T_{m1}$  увеличивается на  $3^\circ\text{C}$ , то  $T_{m2}$  на столько же уменьшается,  $T_{m3}$  же уменьшается еще больше — на  $9^\circ\text{C}$  и становится равной  $75^\circ\text{C}$ . Соответственно меняются и  $\Delta T_1 = 18^\circ\text{C}$ ,  $\Delta T_2 = 11^\circ\text{C}$ ,  $\Delta T_3 = 19^\circ\text{C}$  и  $\Delta h = 34\%$ .

Для комплекса гистона Н1—ДНК уже при комнатных температурах характерна агрегация, что выражается в большем, по сравнению с ДНК, поглощении в области 320—360 нм. Для озвученного комплекса в указанной области поглощение меньше, что свидетельствует об отсутствии агрегационного эффекта. Также и в процессе плавления нативный комплекс имеет тенденцию к агрегации, которая совершенно не заметна для озвученного препарата.

Для нуклеогистона Н2В—ДНК на спектрофотометрической кривой плавления (рис. 2Б) можно выделить три стадии с  $\Delta T_1 = 28^\circ\text{C}$ ,  $T_{m1} = 41^\circ\text{C}$ ,  $\Delta T_2 = 13^\circ\text{C}$ ,  $T_{m2} = 65^\circ\text{C}$ ,  $\Delta T_3 = 17^\circ\text{C}$ ,  $T_{m3} = 81^\circ\text{C}$ . Общий интервал плавления  $\Delta T = 58^\circ\text{C}$  и гиперхромизм  $\Delta h = 40\%$ . После озвучивания гиперхромизм уменьшается до 33%, разница между первой и второй стадиями плавления почти стирается и  $T_m$  становится равной

$\Delta h = 40\%$ , а температура плавления  $T_m = 52^\circ\text{C}$ . Эти величины отличаются от калориметрических:  $T_m = 55^\circ\text{C}$  и  $\Delta T = 32^\circ\text{C}$ . После озвучивания параметры тепловой денатурации ДНК меняются, в частности, несколько уширяется интервал плавления  $\Delta T = 39^\circ\text{C}$ , падает температура плавления  $T_m = 51^\circ\text{C}$  и уменьшается гиперхромизм до 37%, что, очевидно, связано с частичной деградацией ДНК в ультразвуковом поле [6, 8, 9].

Комплексирование ДНК с гистонами Н1 приводит к тому, что на спектрофотометрической кривой плавления (рис. 2А) различаются три стадии со следующими характеристиками:  $T_{m1} = 47^\circ\text{C}$ ,  $T_{m2} = 65^\circ\text{C}$ ,  $T_{m3} = 84^\circ\text{C}$ ,  $\Delta T_1 =$

50°C; также незначительно уменьшается интервал плавления до 55°C.

Комплексы гистон НЗ—ДНК тоже плавятся в три стадии (48°C, 64°C, 80°C) с интервалом  $\Delta T=56^\circ\text{C}$  и гиперхромизмом 38%. Озвучивание комплекса не меняет общего вида кривой плавления, хотя незначительно уменьшается интенсивность максимумов и гиперхромизм комплекса (до 29%).

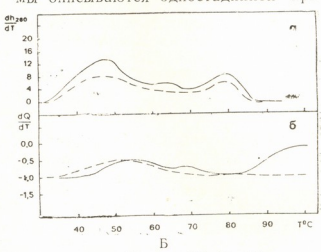
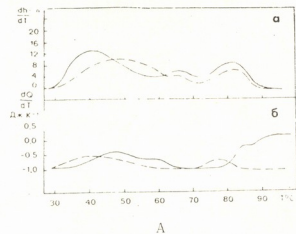


Рис. 2. Кривые плавления комплексов ДНК с гистонами Н2В (А) и НЗ (Б). Обозначения те же, что на рис. 1

Во всех перечисленных случаях озвучивание комплексов отдельный гистон—ДНК незначительно меняет вид дифференциальной кривой плавления. Иная картина наблюдается для коровьего нуклеогистона (комплекс ДНК с гистоновым октамером из  $2 \times (\text{H2A} + \text{H2B} + \text{H3} + \text{H4})$ ). Нативный коровий нуклеогистон плавится (рис. 3а) в две стадии с  $\Delta T_1=12^\circ\text{C}$ ,  $T_{m1}=45^\circ\text{C}$ ,  $\Delta T_2=20^\circ\text{C}$ ,  $T_{m2}=80^\circ\text{C}$ , общим интервалом плавления  $\Delta T=60^\circ\text{C}$  и  $\Delta h=38\%$ . В области  $62^\circ\text{C}$ — $70^\circ\text{C}$  четко выраженного максимума нет, но после озвучивания появляется дополнительный размытый максимум, да и два других выделяются уже не так отчетливо. Интервал плавления озвученного препарата уменьшается до  $56^\circ\text{C}$ , а гиперхромизм до 30%. Эти результаты хорошо согласуются с исследованием тепловой денатурации гомогенных препаратов коровьих частиц из хроматина эритроцитов цыпленка [22], которая также происходит двухстадийно с температурами  $60^\circ\text{C}$  и  $74^\circ\text{C}$ , в то время как ДНК такой же длины денатурирует одним переходом в районе  $44^\circ\text{C}$ . Анализ полученных данных позволил заключить, что первая стадия отвечает плавлению в составе коровьих частиц  $\sim 40$  пар оснований ДНК, а вторая стадия отвечает плавлению  $\sim 100$

пар нуклеотидов, сильно стабилизируемых взаимодействием с гистонами. Однако полученные нами результаты по плавлению реконструированных нуклеосомных частиц (комплекс ДНК+Н1+гистоновый октамер) несколько отличаются от данных Вудкока и Фрадо [25] и ряда других [11, 23], согласно которым мононуклеосомы описываются одностадийной кри-

вой плавления. На рис. 4 представлены дифференциальная спектрофотометрическая (а) и микрокалориметрическая (б) кривые плавления реконструированного нуклеосомоподобного комплекса (НПК). На верхнем рисунке выделяются два основных перехода со следующими характеристиками:  $T_{m1}=62^\circ\text{C}$ ,  $T_{m2}=83^\circ\text{C}$ ,  $\Delta T_1=34^\circ\text{C}$ ,  $\Delta T_2=20^\circ\text{C}$ ,  $\Delta T=54^\circ\text{C}$ . Кроме того, в процессе плавления заметна агрегация, которая проявляется в увеличении гиперхромизма  $\Delta h=48\%$ . На дифференциальной кривой плавления озвученного препарата уже нет заметной разницы между этими двумя переходами, температура основного максимума —  $76^\circ\text{C}$ , интервал плавления —  $50^\circ\text{C}$ , гиперхромизм — 33%, отсутствует агрегационный эффект.

Спектрофотометрическая кривая плавления озвученного НПК почти совпадает с микрокалориметрической; совпадают и кривые плавления в случае озвученных препаратов ДНК (имеется в виду совпадение кривых по интервалу и температуре плавления). В то же время остальные реконструированные нуклеогистоны отличаются по основным термодинамическим характеристикам, определяемым из спектрофотометрических и микрокалориметри-



ческих измерений. Поэтому, прежде чем перейти к рассмотрению основных калориметрических результатов (табл. 1 и 2), рассмотрим несколько возможных причин названных различий.

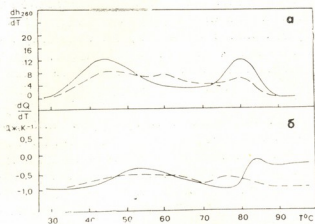


Рис. 3 Кривые плавления реконструированного коровьего нуклеогистона. Обозначения те же, что и на рис. 1

Разница в характеристических температурах плавления, определяемых в обеих методиках, может быть вызвана

как асимметричностью кривой плавления, так и существенно большей (по сравнению со спектрофотометрическими) концентрацией препарата в калориметрических измерениях. Так, наличие упорядоченных конденсированных структур, вероятность образования которых при увеличении концентрации возрастает, обуславливает разницу в температурах плавления (примерно на 4–5°C), определяемых по измерению гиперхромизма и КД [17].

В некоторых случаях на спектрофотометрической кривой выделяется большее (по сравнению с калориметрической) число максимумов (рис. 2А и 3). Наличие дополнительного максимума на кривой поглощения в ультрафиолетовой части спектра говорит об определенной перестройке в структуре нуклеогистона, которая не сопровождается заметным изменением теплоемкости.

Сама форма кривой плавления позволяет сделать определенные выводы о структуре комплексов. Почти

Таблица 1  
Параметры тепловой денатурации реконструированных нуклеогистонов

Нуклеогистон	$T_{M1}$	$T_{M2}$	$T_{M3}$	$\Delta T$	$\Delta C_{pm}$	$\Delta H_{кал}$	$\Delta H_{ВГ}$	$\Delta C_{ид}$
ДНК	55,0	—	—	22	3,0	37,5	280	0
ДНК+Н1	57,0	—	85	53	—	30,0	—	1,3
ДНК+Н2З	47,0	60	83	39	1,0	19,3	—	1,5
ДНК+Н3	53,3	67	—	37	—	19,3	—	1,9
КНГ	55,0	—	83,6	49	—	25,0	—	1,2
НПК	—	—	88	23	1,4	18,4	230	1,0

$\Delta C_{pm}$  — максимальное изменение теплоемкости в  $кДж/мпо \cdot град$ ;  $\Delta H_{кал}$  — теплота плавления в  $кДж/мпо$ ;  $\Delta H_{ВГ} = \frac{4kT_m \Delta C_{pm}}{\Delta H_{кал}}$  — эффективная энтальпия плавления в  $кДж/моль$ ; КНГ — коровий нуклеогистон; НПК — нуклеосомоподобный комплекс

Таблица 2  
Параметры тепловой денатурации озвученных нуклеогистонов

Нуклеогистон	$T_{M1}$	$T_{M2}$	$T_{M3}$	$\Delta T$	$\Delta C_{pm}$	$\Delta H_{ид}$	$\Delta H_{кал}$	$\Delta H_{ВГ}$
ДНК	45,0	—	—	35	1,8	0	30,6	200
ДНК+Н1	51,0	—	81	53	—	0	23,1	—
ДНК+Н2В	45,0	—	78	46	—	0	19,7	—
ДНК+Н3	51,5	—	—	38	—	0	16,4	—
КНГ	54,0	—	78	49	—	0	25,0	—
НПК	—	—	76,5	38	1,9	0	36,8	205

симметричный пик, наблюдаемый при калориметрическом изучении плавления ДНК, предполагается, что плавление начинается преимущественно с концов; плавление со случайных петель будет вести к большей крутизне на высокотемпературной стороне, по сравнению с низкотемпературной ча-

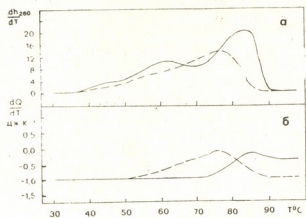


Рис. 4. Кривые плавления нуклеосомоподобного комплекса. Обозначения те же, что и на рис. 1

стью кривой плавления [16]. Поэтому с большой вероятностью можно предположить усложненную, закрученную структуру нуклеогистонов с гистонами Н1 (рис. 2 А и 4) по сравнению с другими комплексами.

Из наиболее важных калориметрических результатов отметим скачок теплоемкости между нативным и денатурированным состояниями нуклеогистона (в таблице  $\Delta C_{пл}$ ), характерный для всех исследованных комплексов. Обработка ультразвуком приводит к полному исчезновению этого

#### ЛИТЕРАТУРА

1. Ашмарин И. П. Молекулярная биология, Изд-во ЛГУ, Л., 1977, 257—263.
2. Георгиев Г. П., Бакаев В. В. Мол. биол., 12, 6, 1215—1230, 1978.
3. Мегрелишвили И. Ш., Шевардиадзе Л. М., Герасимов В. В., Заалишвили М. М. Изв. АН ГССР, сер. биол., 8, 1, 53—58, 1982.
4. Свенсон К., Уэбстер П. Клетка, «Мир», М., 1980, 235—269.
5. Шевардиадзе Л. М., Заалишвили М. М. Изв. АН ГССР, сер. биол., 6, 5, 79—88, 1980.
6. Эльпинер И. Э. Биофизика ультразвука, «Наука», М., 1973, 136—152.
7. Adamson E. D., Woodland H. R. J. Mol. Biol., 88, 263—285, 1974.
8. Crothers D. M., Kallenbach N. R., Zimm B. H. J. Mol. Biol., 11, 802—820, 1965.

скачка, что должно быть связано с разрушением в ходе озвучивания определенных структур, образуемых при комплексировании ДНК с гистонами.

При комплексировании с гистонами происходят изменения во вторичной и третичной структурах самой ДНК; определенные ее части, не связанные с гистонами, плавятся в той же, что и сама интактная ДНК, или чуть отличной области температур, другие же, связанные с гистонами, характеризуются большей температурой плавления. Но для всех нуклеогистонов характерна меньшая теплота плавления  $\Delta H_{кал}$ , по сравнению с ДНК. Наименьшей теплотой плавления характеризуется комплекс ДНК со всеми гистонами ( $\Delta H_{кал}$  для НПК равно 18,4 кДж/мпо), для гистонов Н2В и Н3  $\Delta H_{кал} = 19,0$  кДж/мпо, а для гистона Н1  $\Delta H_{кал} = 30,0$  кДж/мпо и достаточно близка к теплоте плавления ДНК 37,5 кДж/мпо. Теплота плавления озвученного комплекса гистон Н1+ДНК падает до 23,1 кДж/мпо; для коровых нуклеогистонов она практически не меняется и увеличивается для НПК до 36,8 кДж/мпо (эта величина очень близка к теплоте плавления нуклеосомных частиц из эритроцитов цыпленка [22]). Это свидетельствует, с одной стороны, о большей способности гистона Н1 комплексироваться с нативной ДНК по сравнению с озвученной, а с другой — о том, что нуклеосомоподобный комплекс с набором гистонов легче образуется в случае фрагментированной ДНК.

9. Goldstein G., Stern K. G. J. Polymer Sci., 5, 687—691, 1950.
10. Hohmann P. Subcellular Biochem., 5, 87—127, 1978.
11. Lawrence J. J., Chan D. C. F., Piette L. H. Nucl. Acids Res., 3, 2879—2893, 1976.
12. Li H. J. Biopolymers, 12, 287—296, 1973.
13. Lowry O. H., Rosenberg N., Farr A., Bandall R. S. Biol. Chem., 193, 265—275, 1951.
14. Matthews F. R., Bradbury M. E. In: Struct.-Funct. Relationship Proteins, Amsterdam, 1976, 181—190.
15. Mirzabekov A. D., Shick V. V., Belijavsky A. V., Bavykin S. G. Proc. Nat. Acad. Scien. USA., 75, 4184—4188, 1978.
16. Oliver A. L., Wartell R. M., Ratliff R. L. Biopolymers, 16, 115—1138, 1977.
17. Ong E. E., Fasman G. D. Biochem., 15, 477—486, 1976.



18. Privalov P. L., Plotnikov V. V., Filimonov V. V. J. Chem. Thermodynamics, 7, 41—48, 1975.

19. Stein A. J. Mol. Biol., 130, 103—134, 1979.

20. Subirana J. A. J. Mol. Biol., 74, 363—386, 1973.

21. Tuan D. I., Bonner J. J. Mol. Biol., 8, 661—674, 1971.

22. Weisheit W. O., Tatchell K., Van Holde K. E., Klump H. Nucl. Acids Res., 5, 139—160, 1978.

23. Whitlock J. P., Simpson R. T. Nucl. Acids Res., 3, 2255—2266, 1976.

24. Wilhelm F. X., Wilhelm M. L., Sward M., Daune M. P. Nucl. Acids Res., 5, 505—521, 1978.

25. Woodcock C. L. F., Frado L. L. J. Biochem. Biophys. Res. Commun., 66, 403—410, 1975.

რეკონსტრუირებული ნუკლეოჰისტონების სითბური დენატურაცია და ულტრაბგერის ზემოქმედება დნობის პარამეტრებზე

ი. მებრალიშვილი, ლ. შებარდნაძე, ვ. გერასიმოვი, მ. ჯაალიშვილი

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

რ ე ზ ი უ მ ე

სპექტროფოტომეტრიული და მიკროკალორიმეტრიული მეთოდებით შესწავლილი იქნა დნმ-ჰისტონის რეკონსტრუირებული კომპლექსების სითბური დენატურაცია. გამოირკვა, რომ სხვადასხვა ნუკლეოჰისტონური კომპლექსის დნობის მრუდები ერთიმეორისაგან განსხვავდება, ამასთან სპექტროფოტომეტრიული მეთოდით მიღებული დნობის მრუდები განსხვავდება მიკროკალორიმეტრიულისაგან. ყველა ნუკ-

ლეოჰისტონის დნობის სითბო ნაკლებია, ვიდრე **დნმ**-ისა და დენატურირებულ მდგომარეობაში, ნატიფურთან შედარებით, მათთვის დაახლოებით 1,5 კჯ/ფუნტ გრადუსით მეტი სითბოტევადობაა დამახასიათებელი. ულტრაბგერით დამუშავება სობს სითბოტევადობათა ამ განსხვავებას და ზოგიერთი ნუკლეოჰისტონისათვის დამახასიათებელ აგრეგაციას.

THERMAL DENATURATION OF RECONSTRUCTED NUCLEOHISTONES AND ULTRASONIC EFFECT ON THE MELTING PARAMETRES

I. SH. MEGRELISHVILI, L. M. SHEVARDNADZE, V. V. GERASIMOV, M. M. ZAALISHVILI

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

Summary

Thermal denaturation of DNA-histone (H1, H2A, H2B, H3, H4) reconstructed complexes have been studied by scanning microcalorimetry and spectrophotometry. Melting curves were shown to be different for each complex and each method. For all the nucleohistones the heat of melting is less than for DNA and the

heat capacity in the denaturated state is more than in the native one. The sonication of complexes leads to the disappearance of this difference in the heat capacities and aggregation ability which is characteristic of some of the nucleohistones.

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

Сдано в набор 05.04.1981; Подписано к печати 22.07.1982; Формат бумаги  
70×101<sup>1</sup>/<sub>16</sub>; Бумага № 1; Высокая печать; Усл. печ. л. 6,3; Уч.-издат л. 5,9  
УЭ 05638; Тираж 1000; Заказ 2189  
Цена 85 коп.

---

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

---

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



6 53/146



Цена 85 коп.

Индекс 76204