

BIOLOGICAL SERIES

784-8 /  
1982 / 2



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 N 5

თბილისი • თბილი  
- ТБИЛИСИ - ТОМ  
T B I L I S I V O L.

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  
Бionика и биокибернетика



საქართველოს სსრ მეცნიერებათა აკადემიის მაცნე  
ИЗВЕСТИЯ АКАДЕМИИ НАУК ГРУЗИНСКОЙ ССР



# ბიოლოგიის სერია СЕРИЯ БИОЛОГИЧЕСКАЯ

ტომი 8, № 5  
Том

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

სარედაქციო კოლეგია:

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

ლ. გაბუნია, ს. დურმიშიძე, მ. ზალიშვილი, 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. Окужава  
Зам. главного редактора Т. Н. Ониани  
Ученый секретарь Г. Л. Бекаия

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

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

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

Сдано в набор 16.07.82; Подписано к печати 26.10.82; Формат бумаги  
70×108/16; Бумага № 1; Печатных л. 8,40; Уч.-издат. л. 7,17;  
УЭ 07225; Тираж 1000; Заказ 2806  
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



СОДЕРЖАНИЕ — შიგთავსი — CONTENTS

17282

Л. К. Габуния. Палеобиология в Грузии . . . . .	293
ლ. გაბუნია. პალეობიოლოგია საქართველოში	
L. K. Gabunia. Paleobiology in the Georgian SSR	
А. Р. Кезели, Н. И. Ломашвили. Влияние цвета стимула на характер дихоптического взаимодействия в бинокулярных нейронах корковых областей зрительной системы кошки . . . . .	297
ა. კეზელი, ნ. ლომაშვილი. სტიმულის ფერის გავლენა დიქოპტიკური ურთიერთქმედების ხასიათზე კატის მხედველობის სისტემის ქერქული უბნების ბინოკულურ ნეირონებში	
A. R. Kezeli, N. I. Lomashvili. Influence of stimulus colour of the dichoptic interaction in binocular neurons of cortical areas of the cat's visual system	
Л. М. Махарадзе, И. М. Айвазашвили, А. Н. Зиракадзе, Л. Г. Девдариани. Влияние внутриутробной хронической гипоксии на формирование условнорефлекторного оборонительного поведения у новорожденных морских свинок . . . . .	306
ლ. მახარაძე, ი. აივაზაშვილი, ა. ზირაკაძე, ლ. დევდარიანი. ქრონიკული ჰიპოქსიის გავლენა თაღდაცვითი პირობითი რეფლექსების გამომუშავებაზე ახალშობილ ზღვის გოჭებში	
L. M. Makharadze, I. M. Aivazashvili, A. N. Zirakadze, L. G. Devdariani. Effect of intrauterine chronic hypoxia on the development of conditioned defensive behaviour in neonate guinea pigs	
А. А. Унгиадзе. Изменения электрической активности дорсального гиппокампа, вызванные стимуляцией передней поясной извилины . . . . .	312
ა. უნგიადე. დორსალური ჰიპოკამპის ელექტრული აქტივობის ცვლილება სარტყელის ზვეულის წინა ნაწილის გაღიზიანების საპასუხოდ	
A. A. Ungiadze. Changes in electrical activity of the dorsal hippocampus induced by cingulate gyrus stimulation	
Н. С. Мелия. Электронномикроскопическое изучение синергид до оплодотворения у кукурузы с цитоплазматической мужской стерильностью . . . . .	318
ნ. ს. მელია. სიმინდის ციტოპლაზმური მამრობითი სტერლობის მქონე ფორმების სინერგიდების ელექტრონულ-მიკროსკოპიული შესწავლა განაყოფიერებამდე	
N. S. Melia. An electron microscopic study of the synergids of Zea Mays with CMS before fertilization	
В. К. Этерия, И. А. Ибатуллин. Метастазирование опухоли Броун-Пирс в условиях перегрузок . . . . .	324
ვ. კ. ეთერია, ი. ა. იბათულინი. ბროუნ-პირსის სიმსივნეთა მეტასტაზირება ორგანიზმის გადატვირთვის პირობებში	
V. K. Etheria, I. A. Ibatullin. Metastatic spreading of Brown-Pearce tumor in the conditions of overloading	
Г. З. Григорашвили. Исследование влияния белкового изолята из субпродуктов птиц на животный организм . . . . .	330
გ. გრიგორაშვილი. ქათმის სუბპროდუქტების ცილის იზოლატის ცხოველურ ორგანიზმზე გავლენის გამოკვლევა	
G. Z. Grigorashvili. Effect of protein isolate from poultry subproducts on animal organism	
Н. В. Карсанов, Н. О. Эдишерашвили. Активность аденилатциклазы сарколеммы сердца и ее чувствительность к гормональным воздействиям и ионам фтора и кальция при токсико-аллергическом миокардите . . . . .	335
ნ. ვ. კარსანოვი, ნ. ედიშერაშვილი. გულის კუნთის სარკოლემის ადენილატციკლასის აქტივობა და მისი მგრძობელობა ჰორმონების, აგრეთვე ფტორისა და კალციუმის იონების მიმართ, ტოქსიკურ-ალერგიული მიოკარდიტის დროს	
N. V. Karsanov, N. O. Edisherashvili. Heart sarcolemmal adenylate cyclase activity and its sensitivity to hormones as well as to fluoride and calcium ions in toxic-allergic myocarditis	

საბუნების ისტორიის ინსტიტუტი  
თბილისი

- A. V. Mtskhvetadze, D. I. Tushishvili. Изменение трансмембранного переноса ионов натрия в опухолевых клетках в интактном состоянии и в результате воздействия на них лучей рентгена 344
- ა. მცხვეთაძე, დ. თუშიშვილი. ნატრიუმის იონების მიმოცვლის ტრანსმემბრანული ცვლილებები რენტგენის სხივების ზემოქმედების შედეგად
- A. V. Mtskhvetadze, D. I. Tushishvili. X-ray induced changes in Na ion transmembrane transmission
- Л. М. Высокочек. Влияние ионов меди на тепловую денатурацию рибонуклеазы 349
- ლ. ვისოჩეკი. სპილენძის იონების გავლენა რიბონუკლეაზის სითბურ დენატურაციაზე
- L. M. Visochek. The influence of  $Cu^{2+}$  on heat denaturation of ribonuclease
- Д. В. Дзидзигури, М. Р. Кезели, Н. Д. Мгвделадзе, Г. Д. Туманишвили. Изучение фактора ядерного сока, стимулирующего процесс транскрипции 353
- დ. ძიძიგური, მ. კეზელი, ნ. მღვდელაძე, გ. თუმანიშვილი. ტრანსკრიფციის პროცესის მასტიმულირებელი ბირთვული წვეწვანის ფაქტორის შესწავლა
- D. V. Dzidziguri, M. R. Kezeli, N. D. Mgvdeladze, G. D. Tumanishvili. Study of nuclear sap factor stimulating the transcription

**КРАТКИЕ СООБЩЕНИЯ**

მოკლე წერილები

**Short communications**

- М. С. Хурцилава, Е. В. Бут. Влияние ионной силы на свойства миозина В в присутствии саркоплазматического ретикулума 357
- მ. ხურცილავა, ე. ბუტი. იონური ძალის გავლენა მიოზინ B-ს თვისებებზე სარკოპლაზმური რეტიკულუმის თანაარსებობისას
- M. S. Khurtsilava, K. V. But. The influence of ionic strength on the properties of myosin in the presence of sarcoplasmic reticulum



## К 60-летию образования СССР

### ПАЛЕОБИОЛОГИЯ В ГРУЗИИ

Л. К. Габуня

*Институт палеобиологии им. Л. Ш. Давиташвили АН ГССР, Тбилиси*

В 1834 году профессор Московского университета Г. И. Фишер-Вальдгейм назвал отрасль естествознания, изучающую ископаемые остатки организмов прошлых геологических времен, или окаменелости, палеонтологией — наукой о древних существах. Название это вскоре было принято во всех странах Европы и в Америке.

Еще в середине XVIII века исследование ископаемых остатков организмов из различных толщ осадочных пород показали, что эти толщи отличаются друг от друга по содержащимся в них окаменелостям, но общим достоянием науки это положение стало только в начале прошлого столетия, когда легло в основу метода хронологической классификации слоев земной коры. Тем самым была создана предпосылка для возникновения палеонтологии и исторической геологии. Таким образом, палеонтология обслуживает геологию, а через нее и народное хозяйство — горную промышленность, водное и энергетическое хозяйства и т. д. В то же время палеонтология, изучая органический мир в его историческом развитии, разрабатывает вопросы эволюционного учения, и эта ее роль за последние годы значительно возросла. Поэтому теперь все чаще употребляется термин «палеобиология», представляющий синоним «палеонтологии», указывающий на неразрывную связь этой науки с учением о развитии органической жизни. Наконец, совершенно несомненно большое мировоззренческое значение палеонтологии как науки, поставляющей материал для разработки проблем дарвинизма и изучающей эти проблемы. Было бы крайне наивно думать, что идеализм и фидеизм изгнаны из био-

логии и палеобиологии на вечные времена и что можно уже совсем прекратить борьбу за диалектико-материалистические принципы в эволюционном учении (в отдельных случаях идеалисты и теологи ухитряются и сегодня ставить в тупик биологов, которые придерживаются механистического понимания эволюции).

До установления Советской власти палеонтологические исследования в Грузии по существу не велись. Весьма малочисленные геологи, жившие в Грузии или наезжавшие сюда для изучения геологического строения этой территории, изредка производили палеонтолого-стратиграфические исследования, результаты которых, если и публиковались, то за пределами Грузии — в Петербурге, Москве, а то и за границей. Начало систематического исследования в области палеонтологии и стратиграфии на территории Грузии было положено А. И. Джанелидзе (1888—1974). Знаменательной вехой в развитии палеонтологических исследований Грузии было создание в 1941 году Академии наук Грузинской ССР. Еще больший размах получили эти работы после переезда в Тбилиси одного из зачинателей палеобиологических исследований в Советском Союзе Л. Ш. Давиташвили (1895—1977), долгое время работавшего в Москве.

В 1950 году Л. Ш. Давиташвили организовал в системе Академии наук Грузинской ССР Сектор палеобиологии, преобразованный впоследствии в Институт палеобиологии АН ГССР, которым он бесценно руководил до конца своих дней. Теперь в республике активных работников палеонтологической науки больше, чем





их было во всей царской России. Исследования ведутся по многим группам ископаемых организмов — практически по всем группам, имеющим сколько-нибудь важное значение для понимания геологического строения территории нашей страны.

Значительных успехов добились грузинские палеобиологи в области изучения эволюции животного мира Черноморско-Каспийской полосы на протяжении позднетретичного времени, или неогена. Среди органических остатков толщ этого возраста наиболее видное место принадлежит остаткам моллюсков — пластинчатожабберных и брюхоногих, составляющих, естественно, основной объект научных исследований. Однако эти исследования ведутся в теснейшем взаимодействии с изучением других ископаемых организмов того же времени — фораминифер, остракод, водных позвоночных, а также обитателей суши — наземных животных и растений.

Известно, что вследствие горообразовательных движений, происходивших в третичное время, восточная часть великого Средиземного моря, иногда называемая Паратетисом, неоднократно обособлялась, в большей или меньшей степени, от западной его части и претерпевала своеобразное развитие. В зависимости от перипетий этого горообразования, величина, конфигурация и даже число морских бассейнов области Паратетиса с геологической точки зрения очень быстро изменялись, что сразу же отражалось на их населении: одни формы вымирали, а другие, наоборот, развивались и размножались чрезвычайно быстро.

Нашим палеобиологам, изучавшим эту фауну, удалось установить несомненную причинную связь между изменениями условий существования и изменениями органических форм, выяснить характер воздействия факторов среды на организмы, выявить изменчивость, вызываемую и, по-видимому, направляемую этими факторами.

Таким образом, палеобиологическое исследование вымерших организмов из верхнетретичных отложений Грузии позволило совершенно убедительно проследить зависимость эволюци-

онных процессов от изменения условий среды, что весьма важно для изучения многих основных вопросов общей биологии. В свете исследований сотрудников Института палеобиологии можно считать доказанным, что территория Грузии была родиной очень многих позднекайнозойских видов и даже родов: теплый климат, большое разнообразие условий существования и изменчивая конфигурация береговой линии благоприятствовали исключительно быстрому видообразованию. В плиоцене Черноморско-Каспийской области были установлены эволюционные ряды ископаемых животных и растений, которые показывают переход от одних форм к другим, свидетельствуя о постепенности эволюционного процесса, хотя и состоящего сплошь из относительно малозаметных скачков. Кроме того, выявлены некоторые закономерности в историческом развитии морских донных моллюсков. Так например, установлена зависимость выживания и вымирания форм при изменении гидрологических условий от образа их жизни (зарывающиеся формы оказываются более стойкими).

Вопреки довольно распространенному мнению о том, что скорость эволюции не обнаруживает корреляции с изменчивостью или эта корреляция незначительна, изученные грузинскими палеобиологами факты иллюстрируют высокую изменчивость в процессе эволюирования многих новых родов и даже подсемейств, если не семейств. Существенный вклад наших палеобиологов в дело изучения изменчивости заключается в том, что на основании тщательного анализа ископаемого материала им во многих случаях удавалось показать прямую зависимость изменчивости от изменения определенных условий среды. Это касается прежде всего ископаемых водных моллюсков, но, безусловно, подтверждается изучением фораминифер и других групп беспозвоночных моря. На материале из позднего миоцена и плиоцена Черноморско-Каспийской области было установлено также явление массовой направленной изменчивости, стимулируемой определенными изменениями условий существования. Это явление заслуживает дальнейшего тщательного изучения, потому что оно имеет огромное



значение для теории естественного отбора.

Немало внимания уделяют сотрудники Института палеобиологии изучению такого ведущего фактора эволюции организмов, как естественный отбор. В частности, они убедительно показали, что естественный отбор совершенно исключает возможность длительного существования форм, которые практически перестали эволюционировать, в то время как окружающий их органический мир в целом испытывал восходящее развитие. Л. Ш. Давиташвили и его ученикам удалось дать объяснение на основе теории полового отбора эволюции организмов с якобы бесполезными и даже вредными эксцессивными структурами и формами поведения. Ряд крупных исследований был посвящен таким центральным проблемам эволюционного учения, как прогресс в истории органического мира, причины вымирания организмов, проблема соотношения между жизнью особи и истории вида, к которому принадлежит эта особь, проблема связи между изменениями формы и изменениями функций и др.

Всестороннее освещение теоретических вопросов палеобиологии, содержащееся в капитальных трудах Л. Ш. Давиташвили и его учеников, принесло широкую известность этим исследованиям как в нашей стране, так и за ее пределами (о чем не раз свидетельствовала иностранная периодическая литература и многочисленные работы зарубежных ученых из социалистических стран, Франции, Англии, ФРГ, США, Аргентины и др.).

Как известно, в ранние эры геологической истории земли на суше не было жизни. Позже начали появляться примитивные растения суши, водолюбивые, низкорослые, жившие в непосредственной близости от водоемов и в болотах. В дальнейшем растительный покров материков расширялся, появились первые животные на этих материках, постепенно увеличивающие свой ареал. Это — так называемая экогенетическая экспансия органического мира, совершавшаяся на протяжении всей истории жизни на земле. В последние годы особое внимание уделялось у нас вопросам экогенетической экспансии

населения открытых пространств с пониженной влажностью и козовости растительного покрова и наземных позвоночных на протяжении второй половины третичного периода.

Грузинские палеонтологи успешно изучают одну из важнейших групп ископаемых организмов — аммонитов. Подробно исследован вопрос о биологическом значении их вторичных половых признаков и о ритмике половой деятельности. На основании изучения онтогенеза лопастной линии, скульптуры и формы раковины этих моллюсков разработана новая классификация и схема филогении многих крупных групп аммонитов. С этими исследованиями связаны уточнение схемы расчленения мезозоя и обстоятельное рассмотрение вопроса о границе между юрской и меловой системами.

Выполненные в Институте палеобиологии работы существенным образом изменили представление об истории наземной фауны позвоночных Грузии и всего Кавказа, истоки которой относятся теперь уже к мезозою, когда хищные и травоядные динозавры населяли западногрузинскую сушу. На основании этих исследований подробно охарактеризованы олигоценый (фауна гигантских носорогов) и среднемиоценовый (фауна платибеллодонтов, или плоскобивневых мастодонтов) этапы этой истории, а открытие ряда местонахождений гиппарионовой фауны, важнейший элемент которой составляют трехпалые лошадины, или гиппарионы, значительно обогатило наши знания о систематическом составе и истории формирования позднемиоценовых и раннеплиоценовых комплексов позвоночных. Важные результаты получены в Грузии по палеобиологическому изучению китообразных, птиц, черепах и рыб, а также по четвертичным млекопитающим и палеоантропологии.

Особо следует отметить работы по изучению центральной нервной системы ископаемых лошадиных, антилоп, китообразных и др. Как показали эти исследования, данные о филогенетическом развитии головного мозга, отражающие неуклонное совершенствование его деятельности, служат яркой иллюстрацией прогресса в классе млекопитающих.

Большой размах получили в Гру-



зиди так же и с с л е д о в а н и я т р е т и ч н ы х ф л о р , к о т о р ы е и з у ч а ю т с я к а к п о о т п е ч а т к а м л и с т ь е в , т а к и м е т о д а м и п а л е о к а р п о л о г и ч е с к о г о , с п о р о в о - п ы л ь ц е в о г о и э п и д е р м а л ь н о г о а н а л и з а . Н а о с н о в е и с с л е д о в а н и я р а с т и т е л ь н ы х о с т а т к о в п о з д н е г о п а л е о г е н а и н е о г е н а д а н а п о п ы т к а в о с т а н о в л е н и я п а л е о г е о г р а ф и ч е с к о й о б с т а н о в к и о т д е л ь н ы х у ч а с т к о в д р е в н е й с у ш и Г р у з и и ( р е к о н с т р у к ц и я р а с т и т е л ь н о г о п о к р о в а , к л и м а т а , р е л ь е ф а ) . В ч а с т н о с т и , б ы л а р а с к р ы т а и с т и н н а я с у щ н о с т ь ф л о р ы К о л х и д ы — о д н о г о и з н а и б о л е е с т а б и л ь н ы х р е ф у г и у м о в т р е т и ч н ы х ф л о р , в с е е щ е п о р а ж а ю щ и х н а с с в о и м б о г а т с т в о м и р а з н о о б р а з и е м . Б л а г о д а р я о с у щ е с т в л е н н ы м в И н с т и т у т е п а л е о б и о л о г и и и с с л e д o в a н и я м б ы л а п р и н ц и п и а л ь н о о б о с н о в а н а в о з м o ж н o с т ь и с п o л ь з o в а н и я р e з y л ь т a t o в с п o р o в o - п ы л ь ц e в o г o a n a l i z a д л я д р o б н o г o p a c c л e n e н и я с p a v н и т e л ь н o м е л к и х c т p a t и g p a f и ч e c k и х e d и н и ц ( я p y c a и л и д a ж e п o д ь я p y c a ) в e p x н e г o к a i н o з o я .

В е с ь м а с у щ е с т в e н н ы р e з y л ь т a t o в , д o c т и г н у т ы e И н c т и т у т o м п a л e o б и o л o г и и Г р у з и и в o б л a c т и o б o c н o в a н и я д p o б н o г o п o d p a z d e л e н и я м e z o z o й c k и х и k a i н o z o й c k и х o б p a z o в a н и й К a v k a z a и c м e ж н ы х c н и м o б л a c т e й Ю г a C C C P . Э т o т y c п e x д o c т и г н у т п p e м y щ e c t в e н н o н a o c н o в e п a л e o б и o л o г и ч e c k o г o и з y ч e н и я p a z л и ч н ы х г p y п п и c k o п a e м ы х o p g a н и z m o в , o c y щ e c t в л я ю щ e г o в p я d e c л y ч a e в c o т p y d н и ч e c t в e c p a б o т н и к a м и П a л e o н o л o г и ч e c k o г o и н c т и т у т a A H C C C P и г e o л o г и ч e c k и х и н c т и т у т o в A H C C C P и Г C C P .

Н e м a л o в н и м a н и я y д e л я e т c я и з y ч e н и ю н a y ч н o г o н a c л e d и я k л a c c и к o в д a p в и н и z m a . В э т o м o т н o ш e н и и з a c л y ж и в a e т y п o м и н a н и я и з d a н и e в M o

с к в e п o л н o г o c o б p a n и я н a y ч н ы х т p y d o в в ы d a ю щ e г o я р у c c k o г o y ч e н o г o В . O . K o в a л e в c k o г o п o d p e d a k ц и e й Л . Ш . Д a в и т a ш в и л и ( п e p e в o d p a б o т c ф p a n ц y з c k o г o , н e м e ц k o г o и a н г л и й c k o г o я з ы k o в н a p y c c k и й и k o м м e n т a p и й к н и м в ы п o л н e н ы c o т p y d н и k a м и и n c т и т у т a ) , a т a k ж e м o н o г p a ф и и , п o c в я щ e n н ы e a n a л и z y н a y ч н o г o т в o p ч e c t в a В . O . K o в a л e в c k o г o , Л . Д o л л o и д p .

И н c т и т у т п a л e o б и o л o г и и в e д e т c o в м e c t н y ю и c c л e d o в a т e л ь c k y ю p a б o т y c o м н o г и м и н a y ч н ы м и y ч p e ж d e н и я м и C o в e т c k o г o C o ю з a и c o c и a л и c t и ч e c k и х c t p a н . В н a c t o я щ e e в p e м я в c o т p y d н и ч e c t в e c П a л e o н o л o г и ч e c k и м и n c т и т у т o м A H C C C P в ы п o л н я ю т c я и c c л e d o в a н и я п o p a n n e k a i н o z o й c k и м п o z в o н o ч н ы м З a i c a n c k o й в п a d и н ы ; c И н c т и т у т o м г e o л o г и и и g e o ф и z и k и M и н и c t e p c t в a г e o л o г и и , y г л я и n e ф т и C o c и a л и c t и ч e c k o й P e c y б л и k и P y м ы н и и — п o б и o c t p a t i g p a f и и c a p m a t c k и х и п л и o c e n o в ы x o t л o ж e н и й Г р у з и и P y м ы н и и c p a v н и т e л ь н o м y и z y ч e n и ю м и k p o п a л e o н o л o г и ч e c k и х м e л o в ы х и т p e t и ч н ы х э т a л o н o в K a p n a t и K a v k a z a ; c И н c т и т у т o м п a л e o н o л o г и и и g e o л o г и и k в a p t e p a Ю г o c л a в c k o й A k a d e m и и н a y k и и c y c t в a — п o k o p p e л я ц и и k в a p t e p a п o и c k o п a e м ы м c o o б щ e c t в a м м л e k o п и т a ю щ и х ; c И н c т и т у т o м б o т a n и k и A k a d e m и и н a y k П o л ь c k o й N a p o d н o й P e c y б л и k и — п o и z y ч e n и ю з a k o н o м e p н o c t e й п p o c e c c a п p e o b p a z o в a н и я o p g a н и ч e c k o г o м и p a ( н a o c н o в a н и и д a n н ы х c п o p o в o - п ы л ь ц e в o г o a n a л и z a ) и d p .

Н ы н e И н c т и т у т п a л e o б и o л o г и и A H Г C C P п p и з н a n o д н и м и з т e x k p y п н ы х н a y ч н ы х ц e n t p o в c t p a н ы , в k o t o p ы х н a и б o л e e п л o d o т в o p н o p a z p a б a t ы в a ю т c я c o в p e м e n н ы e п p o б л e м ы п a л e o б и o л o г и и .

ლ. გაბუნია. პალეობიოლოგია საქართველოში

L. K. Gabunia. Paleobiology in the Georgian SSR



УДК 612.843.6

ФИЗИОЛОГИЯ ЧЕЛОВЕКА И ЖИВОТНЫХ

## ВЛИЯНИЕ ЦВЕТА СТИМУЛА НА ХАРАКТЕР ДИХОПТИЧЕСКОГО ВЗАИМОДЕЙСТВИЯ В БИНОКУЛЯРНЫХ НЕЙРОНАХ КОРКОВЫХ ОБЛАСТЕЙ ЗРИТЕЛЬНОЙ СИСТЕМЫ КОШКИ

А. Р. Кезели, Н. И. Ломашвили

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

Поступила в редакцию 20.01.1982

С применением тестовых стимулов разного цвета были исследованы рецептивные поля (РП) бинокулярных нейронов корковых полей 17, 18 и области Клэр-Бишопа (КБ) в супрасильвиевой извилине кошки. Оказалось, что от спектрального состава раздражающего света существенным образом зависит характер дихоптического взаимодействия нейронов в области КБ: меняются как форма, так и расположение РП нейронов в поле зрения. В пределах полей 17 и 18 перестройки РП бинокулярных нейронов в ответ на изменения цвета стимула не были обнаружены.

Делается заключение о том, что цветоспецифические нейроны области КБ могут участвовать и в процессах бинокулярного зрения.

### ВВЕДЕНИЕ

Введенное Хартлайном [8] понятие «рецептивного поля» подразумевает тот участок сетчатки глаза, при изменении освещенности которого в конечном итоге активируется определенная ганглиозная клетка. Под РП клетки зрительной системы понимается та область в поле зрения, из которой возможно влияние на частоту разрядов данной клетки. При таком определении РП в него будут включены и те области, которые могут оказывать только лишь тормозящее влияние [4].

При описании бинокулярных нейронов необходимо учитывать, что у них должно быть два РП — для каждого глаза в отдельности. РП, регистрируемое при бинокулярной стимуляции, будет представлять собой результат бинокулярного взаимодействия конвергирующей на данном нейроне импульсации, поступающей с каждого глаза.

В нейронной теории бинокулярного зрения, получившей развитие в конце 60-х годов (в основном усилиями Бишопа с сотрудниками) было

выдвинуто понятие о «рецептивном поле бинокулярного взаимодействия» или короче — о «поле бинокулярного взаимодействия» (ПБВ). Основная характеристика ПБВ — по обе стороны от центральной зоны, дающей максимальную реакцию на оптимальный стимул, имеются зоны глубокого торможения [4].

Барлоу с сотрудниками [3], а затем Никара, Бишоп и Петтигрю [15] разработали концепцию о том, что бинокулярное глубинное зрение формируется на основе корреспондентности и диспаратности РП нейронов стриарной коры.

По литературным данным, более 70% нейронов зрительной коры кошки имеют связи с сетчатками обоих глаз, а пары бинокулярных РП расположены приблизительно в корреспондирующих позициях в противоположных половинах поля зрения и схожи по организации [11, 15, 13]. Хьюбелом и Визелом было описано взаимодействие обоих РП: имеет место как суммация, так и подавление



реакции при одновременной стимуляции обоих глаз [12].

Небольшое количество бинокулярных нейронов можно обнаружить также и в наружном коленчатом теле кошки. Здесь они составляют в среднем лишь около 3% от общего числа [5]. Особого упоминания заслуживает обнаруженный Линдсли с соавторами [14] факт дихоптического взаимодействия, заключающийся в том, что подача слабого, часто даже подпорогового раздражения на один глаз, меняет ответы, регистрируемые в ответ на раздражение другого глаза.

В литературе почти нет указаний о влиянии цвета стимула на характер взаимодействия нейронов НКТ или корковых областей зрительной систе-

мы. В этом отношении несомненный интерес представляет область зрительной супрасильвиевой извилины кошки, впервые описанная в 1954 году [6] и, как показано нами ранее, принимающая участие в цветовом зрении этого животного [2].

На сегодняшний день достаточно полно исследованы многие из свойств нейронов этой области, структура и организация их РП, связи этой области с другими структурами мозга [9] и т. д. Однако, насколько нам известно, пока еще никем специально не изучался вопрос об участии этих нейронов в процессах бинокулярного зрения. Настоящее исследование посвящено изучению характерных особенностей бинокулярных цветоспецифических нейронов области КБ.

## МЕТОДИКА

Опыты ставились на бодрствующим, обездвиженным миорелаксантами, кошкам. Под эфирным наркозом делалась трахеотомия; животное закрепляли в стереотаксический прибор и обнажали череп. Над соответствующими областями коры проделывали трепанационные отверстия. После этого вводили миорелаксанта, прекращали подачу наркоза и переводили животное на искусственное дыхание. Места разрезов и все болезненные точки обрабатывались новокаином. Для предотвращения высыхания роговиц они регулярно орошались физиологическим раствором.

Стимулы проецировались на плоский матовый экран, находящийся в 1 м от животного. Угловые размеры экрана — 60×70 угл. градусов. Проекционная система была сконструирована так, что позволяла проецировать как неподвижные мелькающие стимулы в любой точке экрана, так и предъявлять стимулы, движущиеся в любом направлении с заданной скоростью. При желании можно было менять размеры стимулов и их ориентацию в пространстве.

Отведение производилось вольфрамовыми микроэлектродами с диаметром неизолированного кончика 2—5 мкм.

Опыты ставились как в темноте, после 30-минутной адаптации живот-

ного, так и при фоновом освещении различной интенсивности.

Изменения цвета стимула и фонового освещения производились путем применения светофильтров из набора цветных паспортизированных оптических стекол (ГОСТ—9411—66) с точно известными кривыми коэффициентов пропускания. Изменения интенсивности при смене цветных фильтров компенсировали путем применения соответственно подобранных нейтральных фильтров из того же набора. Если при смене светофильтра регистрировались изменения в реакциях тестируемого нейрона, то, не меняя цветного фильтра, мы изменяли интенсивность света в пределах 1,5—2 лог. единиц в обе стороны. Если при этом зарегистрированные ранее изменения сохранялись, мы вправе были считать, что изменения в ответах данного нейрона вызваны изменением цвета стимула, а не его интенсивности.

Для исключения ошибки эксперимента, вызванной неконтролируемыми изменениями в состоянии препарата, анализировались результаты, полученные путем регистрации лишь тех клеток, которые отводились стабильно в течение достаточно длительного времени — как правило, не менее 40 мин. Это давало возможность проверить достоверность каждого зарегистрированного изменения





многократным повторением экспериментальной процедуры с большими интервалами между измерениями.

Результаты экспериментов обрабатывались на лабораторной вычислительной машине «Анонс».

### РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

В ходе экспериментов были изучены и проанализированы реакции 136 нейронов корковых полей 17, 18 и области Клэр-Бишопа в латеральной супрасильвиевой извилине. РП исследовались тестовыми пятнами разных угловых размеров и разного цвета, как неподвижными, так и движущимися в разных направлениях с разной угловой скоростью. На основании экспериментальных данных строились три карты РП для каждого нейрона — в случае стимуляции ипсилатерального и контралатерального глаза в отдельности и при одновременном предъявлении стимула на оба глаза.

нокулярные (23,8% против 4,7%), тогда как среди нейронов, отвечающих на неподвижные стимулы, бинокулярных всего лишь в два раза больше (47,6% против 23,8%). Добавим, что в полях 17 и 18, как и в наших предыдущих опытах [2], цветоспецифические нейроны, т. е. нейроны, ответ которых меняется в зависимости от цвета раздражающего света, нами не были обнаружены.

Совершенно иначе распределены нейроны по выделенным признакам в области КБ. Начнем с того, что более 70% нейронов этой области проявляют цветоспецифичность. Преобладание количества бинокулярных

Таблица 1

Количественное распределение нейронов по выделенным группам (в скобках — проценты от общего числа нейронов данной области, изученных в эксперименте)

Корковые области	Н е й р о н ы							
	Цветоспецифические				Цветонеспецифические			
	дирекциональные		недирекциональные		дирекциональные		недирекциональные	
	монокулярные	бинокулярные	монокулярные	бинокулярные	монокулярные	бинокулярные	монокулярные	бинокулярные
Область КБ	9 (13%)	9 (13%)	9 (13%)	25 (34%)	6 (7%)	6 (7%)	8 (13%)	0
Поля 17 и 18	0	0	0	0	3 (4,7%)	15 (23,8%)	15 (23,8%)	30 (47,6%)

Нейроны всех изученных областей характеризовались по следующим показателям: монокулярные или бинокулярные, цветоспецифические или нецветоспецифические, реагирующие на неподвижные или движущиеся в поле зрения стимулы.

В табл. 1 суммированы данные о количественном распределении изученных нейронов по этим трем группам.

Как видно из таблицы, около 72% из общего числа исследованных нами нейронов корковых полей 17 и 18 были бинокулярными, что достаточно точно согласуется с данными других авторов [13]. В этих полях бинокулярные нейроны проявляют четко выраженное предпочтение к движущимся стимулам. Такие нейроны встречаются пять раз чаще, чем мо-

нейронов над монокулярными отмечается лишь в группе цветоспецифических, реагирующих на неподвижные стимулы (примерно в 2,6 раза). Ни одного нейрона не обнаружено среди цветонеспецифических, которые отвечали бы на неподвижные стимулы. В остальных группах бинокулярные и монокулярные нейроны были распределены практически поровну.

По характеру организации РП все исследованные нами нейроны можно разделить на две группы. В одну группу входят нейроны, чьи РП имеют четко выраженные центральные и периферические зоны, а в другую — нейроны, РП которых представляют собой сложно организованную совокупность возбуждающих и тормозных зон (соответственно «простые» и

«сложные» клетки, по классификации Хьюбела и Визела [11].

Среди цветоспецифических нейронов области КБ сложные клетки встречаются гораздо реже, чем простые. При этом не был зарегистрирован ни один бинокулярный нейрон, который следовало бы отнести к группе сложных клеток.

Для тестирования РП нейронов применялись тест-объекты разных угловых размеров и формы, объекты неподвижные и движущиеся в разных направлениях с различной скоростью и т. д. После того, как подбирались параметры стимула, дающие максимальную реакцию изучаемого нейрона, производился статистический анализ ответных реакций

Изучение характеристик РП многих численных нейронов полей 17 и 18 показало, что изменение цвета стимула никаких перестроек в структуре РП не выявляет.

На рис. 1 представлена карта РП сложного нейрона поля 18 и результаты статистической обработки изменений активности этого нейрона. Оптимальным раздражителем для данного нейрона было движение круглого пятна размером  $2^\circ$  в горизонтальном направлении со скоростью около  $30 \text{ град/с}$ . На рис. 1Б суммированы данные об изменении частоты разрядов нейрона при прохождении пятна по направлениям, показанным пунктирными линиями. Каждая кривая составлена по ре-

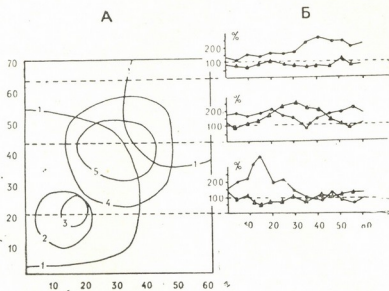


Рис. 1. Результаты статистической обработки импульсной активности сложного нейрона поля 18. А — карта РП; по осям отложены координаты поля зрения в угловых градусах; сплошными линиями выделены зоны максимальной активности (ЗМА): при монокулярной (1) и бинокулярной (2) стимуляции ипсилатерального к отводимому нейрону глаза (средняя частота разрядов —  $45 \text{ имп/с}$ ); 3 — область пика активности в той же зоне (частота разрядов — более  $60 \text{ имп/с}$ ); 4 — ЗМА при стимуляции контралатерального глаза; 5 — область торможения при стимуляции ипсилатерального глаза (частота — менее  $3 \text{ имп/с}$ ). Б — изменения частоты разрядов нейрона при прохождении стимула по направлениям, отмеченным пунктирными линиями, в случае бинокулярной (кружочки) и монокулярной (треугольники) стимуляции контралатерального глаза. По оси абсцисс — координаты поля зрения в градусах, по оси ординат — относительные значения частоты разрядов

и, на основании данных этого анализа, строились карты РП и кривые зависимости частоты разрядов нейрона от координат стимула в поле зрения. Вся процедура повторялась в стандартных условиях с использованием стимулов разного цвета.

Частота фоновых разрядов, принимаемая за 100%, равнялась в среднем  $20 \text{ имп/с}$ .

Как видно из рисунка, РП данного нейрона имеет довольно сложное строение. Если проследить за изме-

нениями частоты разрядов клетки при монокулярной и бинокулярной стимуляции, можно увидеть, что при стимуляции контралатерального глаза в зоне 5 отмечается повышение частоты разрядов, в зонах 2 и 3 — наличие не очень глубокого, но достаточно четко выраженного торможения. При бинокулярной стимуляции хорошо заметно уменьшение частоты разрядов при прохождении раздражающего пятна через зону 5 и очень резкое нарастание частоты в зоне 3. Применение стимулов всех цветов показало, что никаких изменений в структуре РП при этом не происходит.

взаимодействие заключается в том, что стимуляция одного глаза меняет структуру РП, регистрируемого при предъявлении стимула на другой глаз, причем эти изменения зависят от того, какого цвета стимул применяется в том или ином случае.

На рис. 2 приведен пример РП простого нейрона области КБ. На этом рисунке хорошо видно, что в результате дихоптического взаимодействия происходит расширение РП — при бинокулярной стимуляции оно больше, чем РП того же нейрона при стимуляции каждого глаза в отдельности. Графики на рис. 2Б построены так же, как и на рис. 1Б. Средняя

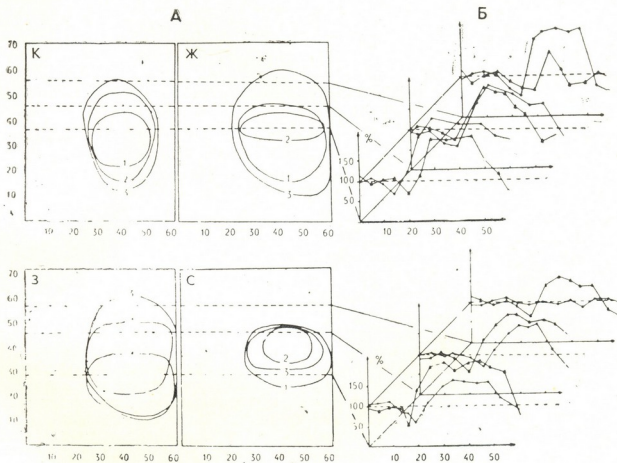


Рис. 2. Центральные зоны РП и результаты статистической обработки активности нейрона области КБ: А — РП при стимуляции красным (К), желтым (Ж), зеленым (З) и синим (С) светом ипсилатерального (1) и контралатерального (2) глаза, а также при бинокулярной стимуляции (3); Б — изменения активности того же нейрона при прохождении стимула по горизонтальным направлениям, указанным пунктирными линиями. Обозначения те же, что и на рис. 1Б

Совершенно иную картину можно увидеть при тестировании РП нейронов области КБ. Бинокулярная стимуляция в этом случае показывает, что в реакциях цветоспецифических нейронов можно обнаружить четко выраженные результаты дихоптического взаимодействия. Дихоптическое

частота фоновой активности данного нейрона — 15 *имп/с*. С целью упрощения рисунка приведены лишь центральные зоны РП. Хочется обратить внимание на то, что в то время как применение других цветов вызывает расширение РП при бинокулярной стимуляции, синий цвет стимула

(светофильтр СС-4) вызывает противоположный эффект — в результате дихоптического взаимодействия происходит сужение РП, оно гораздо меньше, чем РП, получаемые при монокулярной стимуляции.

торможении (рис. 3Б, I). Таким образом, РП данного нейрона с ипсилатерального глаза представляет собой совокупность одних тормозных зон. Как видно из рисунка, бинокулярные РП данного нейрона гораздо

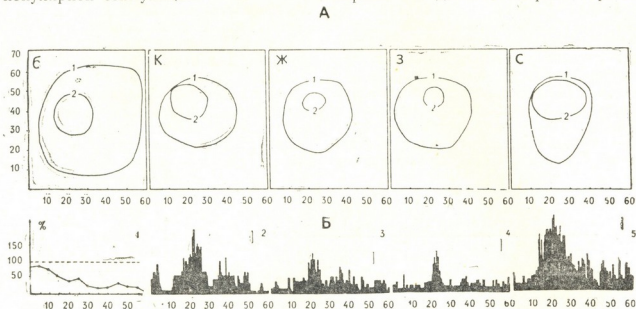


Рис. 3. Результаты статистической обработки активности бинокулярного нейрона области КБ. А — центральные зоны РП при стимуляции контралатерального глаза (1) и при бинокулярной (2) стимуляции белым (Б), красным (К), желтым (Ж), зеленым (З) и синим (С) светом; Б-1 — изменения частоты разрядов при стимуляции ипсилатерального глаза движением белого пятна в горизонтальном направлении по ординате  $Y=45^\circ$ ; Б-2 — 5 — изменения частоты нейрона при бинокулярной стимуляции движением красного (2), желтого (3), зеленого (4) и синего (5) пятен в горизонтальном направлении ( $Y=45^\circ$ ).

Калибровка — 10 имп/с. Остальные обозначения те же, что и на рис. 1 и 2

Реакции нейронов, подобные приведенным на рис. 3, представляют определенный интерес своей характерной особенностью — несмотря на то, что этот нейрон отвечает только на стимуляцию одного глаза (в данном конкретном случае контралатерального), его все же следует отнести к группе бинокулярных нейронов. Дело в том, что стимуляция ипсилатерального глаза также оказывает влияние на частоту разрядов нейрона, которое выражается не в учащении разрядов, а в их значительном

уже, чем монокулярные РП для всех цветов, однако в средней части спектра бинокулярные РП имеют меньшую площадь. На гистограммах (рис. 3Б, 2—5) видно закономерное повышение тормозного влияния ипсилатерального глаза при стимуляции светом средних длин волн.

Добавим к сказанному только то, что оптимальными параметрами раздражения в данном случае было движение круглого пятна размером  $0,5^\circ$  в горизонтальном направлении со скоростью 40 град/с.

## ОБСУЖДЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ

Как известно, по уровню развития системы бинокулярного зрения кошки стоит в одном ряду с обезьяной и человеком [7]. Стереопсис «бинокулярных» животных, по всей видимости, зависит от способности обнаружения малых различий в изображениях предметов на обеих сетчатках глаза.

Наряду с изучением реакций клеток стриарной коры, которая играет важную роль в бинокулярном зрении, внимание исследователей привлекают и другие структуры зрительной системы — в том числе и латеральная супрасильвиевая извилина. Во многих исследованиях за последние годы было изучено взаимодей-



ние этой области как со зрительной корой, так и с подкорковыми образованиями. Было показано, например, что после билатерального удаления полей 17, 18 и 19 резко уменьшается количество дирекционально селективных нейронов области КБ и, в то же время, уменьшается количество нейронов, отвечающих на стимуляцию ипсилатерального глаза [17]. Удаление же передних бугров четверохолмия вызывает возрастание частоты ответов на стационарные мелькающие стимулы и выявляет ориентационную чувствительность у нейронов, которые в норме не отвечали на движущиеся стимулы. В то же время удаление передних бугров не оказывает влияния ни на количество бинокулярных нейронов в области КБ, ни на свойства их РП [16].

На основании анализа литературных данных можно прийти к заключению, что стереоскопическая функция у кошек осуществляется преимущественно нейронами полей 17, 18 и 19, при участии и области КБ. Определенную роль должны играть при этом также и нейроны наружного колленчатого тела [5].

Какова доля участия нейронов латеральной супрасильвиевой области в бинокулярном зрении, до сих пор окончательно не выяснено. Тем более никем не изучался вопрос о связи цветоспецифичности нейронов этой области с процессами узнавания объемной формы предметов.

В специальной литературе уже давно обсуждается вопрос о значении цветового зрения для решения задач такого рода. В частности, существует мнение, что «цветное зрение у большинства животных предназначено не только... для узнавания окраски предметов внешнего мира, но также служит для узнавания их объемной формы» [2].

Можно ли говорить о наличии такого механизма в зрительной системе кошки? Как наши предыдущие данные [1], так и экспериментальный материал, приведенный в настоящем сообщении, дают все основания утверждать, что одной из функций нейронов области КБ является участие в процессах бинокулярного зрения, причем ведущую роль должны играть, по всей видимости, цветоспецифические нейроны этой области.

И в самом деле, из приведенного материала видно, что результат взаимодействия возбуждений, поступающих на бинокулярный нейрон области КБ с обоих глаз, существенным образом зависит от цвета стимула, вызвавшего это возбуждение. В естественных условиях при рассмотрении объемных предметов на различные участки сетчатки будут падать лучи, отраженные под разным углом от разных точек поверхности предмета. В результате, на входы бинокулярного нейрона будет поступать информация от сетчаток обоих глаз, несущая в себе данные о различиях в спектральном составе световых лучей, идущих от разных точек рассматриваемой поверхности. В эксперименте эти различия могут выражаться в перестройке РП в зависимости от того, светом какого спектрального состава стимулируется участок сетчатки, связанный с регистрируемым нейроном.

Разумеется, наши данные не дают возможность оценить, каким образом рассчитывает зрительная система основные характеристики объекта при оценке его объемной формы, однако ясно, что происходить это должно, по всей видимости, при участии цветокодирующих нейронов области КБ.

Как видно из нашего материала, многие нейроны области КБ одновременно принимают участие в осуществлении нескольких, отличных друг от друга, функций, так как один и тот же нейрон одновременно является цветоспецифичным, реагирует или не реагирует на движущиеся стимулы, может быть бинокулярен, т. е. участвовать в процессах стереоскопического зрения, и т. д. Причем, при анализе качественно различных раздражителей, участие нейронов, по всей видимости, происходит таким образом, что различные функции вычисляются нейроном независимо друг от друга.

Из всего сказанного можно заключить, что нейроны области КБ принимают участие в осуществлении различных функций, необходимых для эффективной работы зрительной системы. Эти нейроны обрабатывают информацию о цвете стимула, оценивают направление и скорость движения объекта и играют важную роль в узнавании объемной формы предметов.



ЛИТЕРАТУРА

1. Кезели А. Р. Нейрофизиология, **11**, 1, 11—17, 1978.
2. Максимова Е. М., Диментман А. М., Максимов В. В., Николаев П. П., Орлов О. Ю. В кн.: Механизмы зрения животных, «Наука», М., 1978, 96—134.
3. Barlow H. B., Blakemore C., Pettigrew J. D. J. *Physiol. (Lond.)*, **193**, 2, 327—342, 1967.
4. Bishop P. O., Henry G. H., Smith C. J. *J. Physiol. (Lond.)*, **216**, 1, 39—68, 1971.
5. Chow K. L., Lindsley D. F. *J. Neurophysiol.*, **32**, 2, 116—126, 1969.
6. Clare M. H., Bishop G. H. *J. Neurophysiol.*, **17**, 3, 271—277, 1970.
7. Fox R., Blake H. R. *Nature (Lond.)*, **233**, 5314, 55—56, 1971.
8. Hartline H. K. *Amer. J. Physiol.*, **121**, 2, 400—415, 1938.
9. Heath C., Jones E. *Ergebn. Anat. Entwickl.-Gesch.*, **45**, 3, 5—64, 1971.
10. Heydt R., Adorjani C., Hanny P., Baumgartner G. *Exp. Brain Res.*, **31**, 4, 523—545, 1978.
11. Hubel D. H., Wiesel T. N. *J. Physiol. (Lond.)*, **148**, 3, 574—591, 1961.
12. Hubel D. H., Wiesel T. N. *J. Physiol. (Lond.)*, **160**, 1, 106—154, 1962.
13. Joshua D. E., Bishop P. O. *Exp. Brain Res.*, **10**, 4, 389—416, 1970.
14. Lindsley D. F., Chow K. L., Gollender M. *J. Neurophysiol.*, **30**, 3, 628—644, 1967.
15. Nikara T., Bishop P. O., Pettigrew J. D. *Exp. Brain Res.*, **6**, 4, 353—372, 1968.
16. Smith D. C., Spear P. D. *J. Neurophysiol.*, **42**, 1, 57—75, 1979.
17. Spear P. D., Bauman T. P. *J. Neurophysiol.*, **42**, 1, 31—56, 1979.

სტიმულის ფერის გავლენა დიჰოპტიკური ურთიერთგამდობის ხასიათზე კატის მხედველობის სისტემის ძირითადი უზენაესი ბინოკულურ ნეირონებში

ა. კეზელი, ნ. ლომაშვილი

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

რ ე ზ ი უ მ ე

კატის თავის ტვინის ქერქის მე-17 და მე-18 ველების, აგრეთვე ე. წ. კლერ-ბიზობის უბნის ბინოკულური ნეირონების რეცეპტულ ველთა თვისებების შესწავლისას აღმოჩნდა, რომ გამაღვიანებელი სინათლის სპექტრულ შედგენილობაზე მნიშვნელოვნადაა დამოკიდებული დიჰოპტიკური ურთიერთგამდობის ხასიათი კლერ-ბიზობის უბნის ნეირონებში. ამ ურთიერთგამდობის შედეგად იცვლება როგორც რე-

ცეპტული ველის ფორმა, ისე მისი განლაგება ხედვის არეში. სტიმულის ფერის შეცვლა არავითარ გავლენას არ ახდენს მე-17 და მე-18 ველების ნეირონთა რეცეპტული ველების სტრუქტურაზე.

დავასკვნით, რომ კლერ-ბიზობის უბნის ნეირონები, რომლებიც სინათლის ფერისადმი მგრძობიარენი არიან, შესაძლოა, იმავე დროს ბინოკულური მხედველობის პროცესებშიც მონაწილეობენ.



# INFLUENCE OF STIMULUS COLOUR ON THE DICHOPTIC INTERACTION IN BINOCULAR NEURONS OF CORTICAL AREAS OF THE CAT'S VISUAL SYSTEM

A. R. KEZELI, N. I. LOMASHVILI

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

## Summary

Receptive fields (RF) of binocular units of areas 17,18 and of the lateral suprasylvian area (LSSA) of the cat during different wave-length stimulation were studied.

It was shown that alterations of stimulating light wave-length considerably change dichoptic interaction in LSSA

units: changes occur both in the shape and placement of RF.

In 17 and 18 fields no changes were observed in the binocular neurons RF in response to alterations of stimulus colour.

It is concluded that colour-specific neurons of LSSA may also participate in binocular vision.

პ. შარდინა სპ. სპ. სსრ  
საბიბლიოთეკო რედაქცია  
3 0 8 4 0 0 0 0 0

УДК 612.827.612.143

ФИЗИОЛОГИЯ ЧЕЛОВЕКА И ЖИВОТНЫХ

## ВЛИЯНИЕ ВНУТРИУТРОБНОЙ ХРОНИЧЕСКОЙ ГИПОКСИИ НА ФОРМИРОВАНИЕ УСЛОВНОРЕФЛЕКТОРНОГО ОБОРОНИТЕЛЬНОГО ПОВЕДЕНИЯ У НОВОРОЖДЕННЫХ МОРСКИХ СВИНОК

Л. М. Махарадзе, И. М. Айвазашвили, А. Н. Зиракадзе,  
Л. Г. Девдариани

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

*НИИ перинатальной медицины, акушерства и гинекологии им. К. В. Чачава, Тбилиси*

Поступила в редакцию 29.01.1982

Изучалось функциональное нарушение центральной нервной системы новорожденных морских свинок, развивавшихся в условиях хронической гипоксии, вследствие алиментарной «токсемии» матери. Показано, что выработка и особенно упрочение условного оборонительного поведения типа двустороннего избегания у гипоксированных новорожденных (вследствие 15-дневной «токсемии» матери) требует значительно большего числа сочетаний, чем у контрольных. Что касается новорожденных, перенесших длительную и тяжелую гипоксию (вследствие 30-дневной «токсемии» матери), то выработка у них указанного поведения на звуковые сигналы вообще не удается. У таких животных в результате экспериментов формируется условная защитная реакция только общеповеденческого характера.

Среди факторов, обуславливающих хроническую гипоксию развивающегося плода, одно из первых мест занимают токсикозы беременности матери. Установлено, что при токсикозе беременности нарушение обмена веществ и накопление недоокисленных продуктов обмена вызывают нарушение кислородного режима в организме матери. При этом возникают многообразные и взаимосвязанные патологические процессы, которые расстраивают маточно-плацентарное кровообращение и приводят к хронической гипоксии плода [2, 5, 6, 11, 12, 15, 16]. Показано, также, что хроническая гипоксия приводит к значительным функциональным и структурным изменениям, главным образом, центральной нервной системы развивающегося организма [2, 4, 5—8, 12, 13, 16—19, 21, 22]. Из всего сказанного очевидно, что изучение осо-

бенностей физического и психического развития детей, развивающихся внутриутробно в условиях хронической гипоксии, имеет важное значение, так как обуславливает рациональное проведение терапевтических и профилактических мероприятий. Однако в клинике не всегда становится возможным выявление ближайших и отдаленных результатов перинатальных повреждений, что диктует со своей стороны необходимость изучения этой проблемы на животных моделях. В связи с этим в настоящей работе была поставлена цель исследовать особенности формирования и упрочения условного оборонительного поведения у новорожденных животных, развивающихся в условиях внутриутробной хронической гипоксии, вследствие алиментарной «токсемии» матери.

### МЕТОДИКА

Опыты проводились на новорожденных морских свинках. Алиментар-

ная «токсемия» матери достигалась путем кормления морских свинок

окисленными жирами [11, 20]. Контрольную группу составляли новорожденные от нормальных беременных (беременность которых протекала физиологически) морских свинок. Экспериментальную группу составляли новорожденные, матери которых со второй половины беременности (в течение последних 15 или 30 дней) ежедневно, помимо обыкновенного рациона, получали окисленный жир в количестве 3 г в один прием.

Эксперименты проводились в специальной камере (60×40 см), разделенной на два отделения перегородкой высотой 10 см. Посередине перегородки имелось небольшое отверстие, через которое животное могло переходить из одного отделения в другое. Дно камеры было электрифицировано. С помощью рычагов можно было подавать ток то в одну, то в другую половину камеры.

Условное оборонительное поведение двустороннего избегания у морских свинок вырабатывалось на звуковое раздражение. Для этой цели включался условный сигнал (прерывистый звук 1000 Гц силой 60 дБ), который на 3—4-й с сочетался с без-

условным раздражением морской свинки. Безусловным раздражителем во всех опытах служил подаваемый на пол камеры переменный ток напряжения (30—50 В), при котором животные старались найти место, где электроболевое раздражение отсутствовало: для избежания электрораздражения необходимо было перепрыгнуть через перегородку или выбежать через его отверстие в другое «безопасное» отделение камеры. В течение каждого опыта производилось 15—20 сочетаний с интервалами в 1—2 мин.

Опыты проводились на 33 новорожденных от 15 беременных морских свинок. Морские свинки исследовались с 1 по 30 день их постнатальной жизни. Для уменьшения индивидуальных колебаний старались брать исследуемые потомства от одних и тех же самок.

Опыты начинались с первого же дня рождения морских свинок и продолжались ежедневно до упрочения выработанного поведения, а в дальнейшем — через каждый 3 или 4-й день до месячного возраста.

## РЕЗУЛЬТАТЫ ЭКСПЕРИМЕНТОВ

Новорожденные, родившиеся в срок от нормальных беременных морских свинок, быстро привыкали к обстановке опыта. На фоне электрического раздражения животные сразу реализовывали поведение избегания — быстро перебежали в другое «безопасное» отделение камеры. Для троих животных пороговым раздражителем для выявления безусловного оборонительного поведения оказался ток напряжением 40 В, а для двух — 45 В. Условное оборонительное поведение у животных удалось выработать в первый же день в среднем после  $8 \pm 0,5$  сочетаний. Для упрочения поведения потребовалось  $34 \pm 0,8$  сочетаний. У двух новорожденных выработанное поведение оказалось прочным и не угасло за весь период наблюдения; у остальных оно было сравнительно лабильное и при неподкреплении быстро угасало. Первый признак угасания условного поведения появлялся у них к  $41 \pm 0,3$  неподкреплению условного раздражителя,

а к  $62 \pm 0,2$  — оно угасало полностью.

Иная картина наблюдалась при выработке условного оборонительного поведения у новорожденных, извлеченных нами кесаревым сечением за 5—7 дней раньше обычного срока. На этих животных выработку условного оборонительного поведения начинали спустя 2—3 ч после рождения. До начала опыта они свободно выходили из одной половины камеры в другую через отверстие. Несмотря на это, в ответ на безусловный раздражитель они бегали, хаотично перемещаясь с одного угла в другой, не находя выхода через перегородку.

Однако в результате многократного сочетания условного сигнала с безусловным у животных постепенно выработывалось условное оборонительное поведение в виде перебежки с одного отделения в другое. Причем первое условное оборонительное поведение на звук в первый же день работы было получено только у одного новорожденного на  $37 \pm 0,2$  сочетаний,





а у двух — на 4-й день на  $85 \pm 0,4$  сочтаний. В течение первой недели условное оборонительное поведение не имело регулярный характер. Но от опыта к опыту число условных ответов быстро увеличивалось, и на 8—10-й день у животных вырабатывалось прочное поведение. Латентный период условного поведения в начале был значительно длительным по сравнению с доношенными новорожденными, но в дальнейшем, по мере упрочения поведения, такое различие постепенно уменьшалось.

Сравнивая динамику выработки условного оборонительного поведения на звук у родившихся в срок и недоношенных морских свинок, можно сказать, что формирование условного поведения у последних происходит в более поздние сроки по сравнению с доношенными.

Эти данные коррелируют с данными М. П. Клявиной [4], которая показала, что у плодов, извлеченных из матки, выработка и упрочение условного поведения требуют более длительного времени, чем у рожденной в срок морской свинки.

Некоторое увеличение сроков появления условного оборонительного поведения у недоношенных и большой первоначальный латентный период, вероятно, указывают на сравнительно пониженную возбудимость центральной нервной системы на этой стадии онтогенеза животного.

Образование условного поведения у недоношенной свинки в первый же день рождения подтверждает предположение о возможности образования временных нервных связей задолго до рождения [3, 4, 13, 14, 23].

Выработка условного оборонительного поведения производилась и на 10 новорожденных морских свинок, развивавшихся в условиях гипоксии различной продолжительности. Шестеро родились в срок самопроизвольно. Трое из них — от самки с 30-дневной продолжительностью «токсемии», а остальные — от другой самки с 15-дневной «токсемией». Четверо новорожденных (двое с 30- и двое с 15-дневной хронической гипоксией) были извлечены нами из матки за 5—7 дней раньше обычного срока.

Новорожденные, перенесшие хроническую гипоксию, выявляли большую индивидуальность и существен-

но отличались от контрольных как общим поведением, так и скоростью выработки условного поведения. В процессе приучения к экспериментальной обстановке, при сравнительно легких формах и недлительном течении токсемии (15 дней), животные отличались повышенной двигательной возбудимостью, все время пищали, бегали, постоянно обнюхивали помещение, вздрагивали при незначительном шуме, чувствительность к повреждаемым раздражителям была значительно повышена. Для проявления безусловного рефлекса пороговым оказался электрический ток напряжением 30 В, тогда как у остальных он вызывал только ориентировочную реакцию. При действии безусловного болевого раздражителя подопытные старались выпрыгнуть через перегородку, пищали и долго не успокаивались; у них отмечалось учащение дыхания. Условное поведение образовалось легко, но длительное время проявлялось нерегулярно, и было сравнительно не стойким; упрочение затруднялось. Нарастание числа условных ответов от опыта к опыту происходило медленнее и нередко для проявления положительной реакции на условный сигнал в начале требовалось применение подкрепления.

При сравнении полученных результатов видно, что если проявление первых условных рефлексов у перенесших гипоксию и контрольных свинок совпадает по времени, то в числе сочетаний для упрочения рефлекса наблюдаются существенные различия (рис. 1).

У плодов, извлеченных из матки досрочно и перенесших 15-дневную гипоксию, выработка и упрочение условного рефлекса во времени существенно не отличается от морских свинок, родившихся в срок самопроизвольно. В отличие от них здесь доношенные новорожденные не выявляли статистически достоверную разницу в скорости выработки условных рефлексов.

Относительно удовлетворительное состояние извлеченных из матки новорожденных, несмотря на недоношенность, вероятно, объясняется тем, что сам родовой акт становится стрессорным фактором для плода в условиях патологического течения беременности.



Наиболее резкие изменения в общем поведении и в высшей нервной деятельности наблюдались у новорожденных, матери которых перенесли 30-дневную токсемию. В отличие от других гипоксированных они рождались слабыми, неподвижными, плохо

звала адекватное поведение животного — активный поиск путей избегания повреждающего раздражителя. На одном новорожденном пришлось вообще прекратить работу, так как он не реагировал на пороговый безусловный раздражитель. При постепенном увеличении электрического тока он реагировал лишь на первое раздражение.

У животных с длительной гипоксией существенное нарушение выявилось и при выработке условного оборонительного поведения. В результате экспериментов, которые продолжались в течение одного месяца, выработать у них специализированное условное оборонительное поведение в виде двустороннего избегания не удалось. За это время у морских свинок образовалась условная защитная реакция только общеповеденческого характера: на звуковой сигнал животные начинали сильно беспокоиться или хаотично бегать из одного места в другое.

Как известно, головной мозг морской свинки к моменту рождения созревает до такой степени, что становится возможным образование временных связей. Скорость выработки условного рефлекса общего и специализированного характера у них существенно не изменяется в течение всего периода постнатального развития [3]. Известно также, что срок возникновения оборонительного условного рефлекса определяется морфологическим созреванием высших отделов ЦНС.

Изменения общего поведения и динамика выработки условного оборонительного поведения у новорожденных морских свинок, развитие которых проходило в условиях кислородной недостаточности, указывает на нарушение функции ЦНС. Различный характер нарушений условнорефлекторной деятельности при указанной выше патологии находит объяснение в морфо-функциональных, биохимических и нейрохимических сдвигах в мозговой ткани [1, 9, 10].

Так установлено, что в зависимости от продолжительности гипоксии поражения мозговых структур не однозначны [11]. Структурные изменения в головном мозгу особенно четко выражены в подкорковых зонах у плодов, матери которых страдали

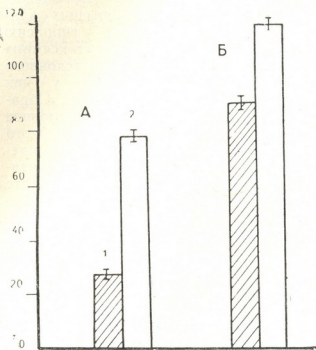


Рис. 1. Выработка (1) и упрочение (2) условного оборонительного рефлекса на звуковой стимул у новорожденных морских свинок: А — контрольная группа; Б — экспериментальная (перенесшие внутриутробно 15-дневную гипоксию); ордината — число сочетаний условного раздражителя с безусловным

адаптировались в обстановке эксперимента. Привлекало внимание наличие сильного пассивно-оборонительного поведения. В первые минуты подсаживания в камеру они замирали на месте или забирались в угол камеры и долго там оставались неподвижно. При сильном шуме вздрагивали, при этом наблюдалась задержка дыхания, урежение сердцебиения. Безусловное оборонительное поведение у них проявлялось на действие электротока напряжением 45—50 В. В ответ на болевое раздражение они или дрожали на месте, или в поисках безопасного места долго и хаотично бегали, лазили по стенам камеры и не находили выхода в перегородке. Иначе говоря, электрическое болевое раздражение обуславливало развитие сильной эмоциональной реакции страха, которая парали-



30-дневной токсемией, а у плодов, развивавшихся при 15-дневной токсемии, кора и подкорковые образования повреждены почти равномерно, с некоторым преобладанием извращений обмена веществ в коре.

Следовательно, условнорефлекторные нарушения находятся в коррелятивных отношениях со структурными изменениями мозговой ткани, степень которых, в свою очередь, зависит от тяжести и длительности метаболических нарушений в материнском организме вследствие алиментарной токсемии [11].

Таким образом, исследования, проведенные на нормальных и гипоксированных новорожденных морских свинок, выявили существенные различия в формировании и упрочении условного оборонительного поведения. Причем степень различия нахо-

дится в зависимости от тяжести и продолжительности гипоксии плода. Формирование, и особенно упрочение условного поведения у гипоксированных новорожденных (вследствие 15-дневной «токсемии» матери), требует значительно большего числа сочетаний, чем у интактных. Что касается новорожденных, перенесших длительную и тяжелую гипоксию (вследствие 30-дневной «токсемии» матери), то при выработке условного оборонительного поведения у них выявлены резкие нарушения. Образовать специализированное условное оборонительное поведение двойного избегания на звуковые сигналы в течение одного месяца работы не удалось. У таких животных в результате экспериментов формируется условная защитная реакция только общеповеденческого характера.

ЛИТЕРАТУРА

1. Айвазашвили И. М., Зиракадзе А. Н., Карели Э. А. Изв. АН ГССР, сер. биол., 5, 1, 5—11, 1979.
2. Бириляк И. Р., Охранчук Б. В. Бюлл. эксп. биол. и мед., 74, 8, 86—89, 1972.
3. Волохов А. А. Очерки по физиологии нервной системы, «Медицина», Л., 1968.
4. Голубева Е. А. Арх. биол. наук, 54, 1, 132—138, 1939.
5. Голубовская З. А. Автореф. канд. дисс., М., 1972.
6. Грязнова И. М., Турин В. Р., Мазурова В. М., Макаров А. А. Вопр. охр. матер. и детства, 20, 1, 67—72, 1975.
7. Евсюкова И. И. Вопр. охр. матер. и детства, 26, 1, 27—32, 1981.
8. Зиракадзе А. Н., Бакрадзе М. Н., Махарадзе Л. М., Джапашвили Л. Ш. Мат. I съезда акуш. и гинек. ГССР, Тбилиси, 1974, 86—87.
9. Зиракадзе А. Н. Мат. I съезда акуш. и гинек. ГССР, Тбилиси, 1974, 58—59.
10. Зиракадзе А. Н., Мchedlishvili Н. Ш. Мат. I съезда акуш. и гинек. ГССР, Тбилиси, 1974, 44—45.
11. Махарадзе Л. М., Зиракадзе А. Н., Макашвили Г. А. В сб.: Пути снижения перинатальной патологии, Тбилиси, 1979, 63—67.
12. Новикова Е. Ч., Бодяжина В. И. Вопр. охр. матер. и детства, 20, 1, 3—9, 1975.
13. Образцова Г. А. Вопросы онтогенеза высшей нервной деятельности, «Наука», М.—Л., 1964.
14. Панченкова Э. Ф. Журн. высш. нерв. деят., 5, 6, 873—879, 1955.
15. Развивающийся мозг и среда. Сб. трудов под ред. Э. А. Асратяна, «Наука», М., 1980.
16. Савельева Г. М., Федорова М. В., Сапелькина И. М., Быкова Г. Ф. Акуш. и гинек., 1, 7, 49—54, 1974.
17. Эдельштейн Э. А., Чебуркин А. В., Тюркин Р. А. ЦОЛИУВ, 1975.
18. Blecher J. N., Stenger V. G., Eitzman D. V., Pristowsky H. Amer. J. Obstet. Gynec., 99, 1, 46—54, 1967.
19. Colorri E., Marino V., Cattalfato J. Obstet. Gynec., 53, 3, 123—132, 1972.
20. Mac Cay J., Goldenberg M. J. Obstet. Gynec., 5, 21, 651—658, 1963.
21. Roland E., Myers R. E. In: Perinatal Factors Affecting Human Development, D. C., 20037, USA, 205—215, 1969.
22. Nyka W. Z. Gebursh. Perinat., 180, 4, 290—294, 1964.
23. Zirakadze A. N., Suladze T. N., Lazriev I. L. Recent progress in perinatal medicine. Perinatologia tovabkepro simposium orostovabkepro intezet, Budapest, 1981, 29—32.

## ქრონიკული ჰიპოქსიის გავლენა თავდაცვითი პირობითი რეფლექსების გამომუშავებაზე ახალშობილ ზღვის გოჭივზე

ლ. მახარაძე, ი. აივაზაშვილი, ა. ზირაკაძე, ლ. დევიდარიანი

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

საქართველოს სსრ ჯანმრთელობის დაცვის სამინისტროს კ. ჩაჩავას სახელობის პერინატალური მედიცინისა და მენაობა-გინეკოლოგიის სამეცნიერო-კვლევითი ინსტიტუტი, თბილისი

### რ ე ზ ი უ მ ე

შრომაში შესწავლილია თავდაცვითი პირობითი რეფლექსების გამომუშავება ახალშობილი ზღვის გოჭებში, რომლებიც დედის მუცლად ყოფნის დროს სხვადასხვა ხანგრძლივობის ქრონიკული ჰიპოქსიის პირობებში ვითარდებოდნენ. ნაჩვენებია, რომ ბევრით გამლიზიანებულზე ე. წ. ორმხრივი განრიდების პირობითი თავდაცვითი ქცევის გამომუშავება, განსაკუთრებით კი ამ ქცევის განმტკიცება, ბევრად უფრო

მეტ შეუძლებას საჭიროებს, ვიდრე საკონტროლო ცხოველებში. რაც შეეხება ახალშობილებს, რომლებიც ხანგრძლივი და მძიმე ჰიპოქსიის პირობებში ვითარდებოდნენ (დედის 30-დღიანი ტოქსემიის გამო), ეს ქცევა საერთოდ არ უმუშავდებათ. ასეთ ცხოველებს, ცდების შედეგად, ბევრით გამლიზიანებულზე მხოლოდ ზოგადი ქცევითი ხასიათის პირობითი თავდაცვითი რეაქცია უვითარდებათ.

## EFFECTS OF INTRAUTERINE CHRONICAL HYPOXIA ON THE DEVELOPMENT OF CONDITIONED DEFENSIVE BEHAVIOUR IN NEONATE GUINEA PIGS

L. M. MAKHARADZE, I. M. AIVAZASHVILI, A. N. ZIRAKADZE,  
M. G. DEVDARIANI

I. S. Beritashvili Institute of Physiology, Georgian Academy of Sciences, Tbilisi  
K. V. Chachava Institute of Perinatal Medicine, Obstetrics and Gynaecology,  
Tbilisi, USSR

### S u m m a r y

Functional disturbance of the central nervous system in neonate guinea pigs developed under the conditions of chronic hypoxia due to maternal alimentary «toxemia» was studied. It has been shown that the acquisition and especially maintenance of a conditional defensive behaviour in the form of a double avoidance in the neonates subject to hypoxia (as a result of maternal 15-day-long

«toxemia») requires considerably more combinations than in controls. As for the neonates which had experienced a long and severe hypoxia (as a result of maternal 30-day-long «toxemia»), the acquisition of the above-mentioned behaviour to sound signals is a complete failure. As a result of experiments such animals develop a conditioned defensive reaction of only general behavioural nature.

УДК 612.823

ФИЗИОЛОГИЯ ЧЕЛОВЕКА И ЖИВОТНЫХ

## ИЗМЕНЕНИЯ ЭЛЕКТРИЧЕСКОЙ АКТИВНОСТИ ДОРСАЛЬНОГО ГИППОКАМПА, ВЫЗВАННЫЕ СТИМУЛЯЦИЕЙ ПЕРЕДНЕЙ ПОЯСНОЙ ИЗВИЛИНЫ

А. А. Унгиадзе

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

Поступила в редакцию 19.04.1982

Методом вызванных потенциалов изучено функциональное взаимодействие между передним отделом поясной извилины и дорсальным гиппокампом кошки. На основании результатов опытов с раздражением поля 24 высказывается предположение, что в генезе ответов дорсального гиппокампа, помимо известных полисинаптических проекций, принимает участие короткая прямая нейрональная связь.

Наличие нервных связей между поясной извилиной и гиппокампом не вызывает сомнения [2, 3, 12, 15, 16, 19, 20]. Однако вопрос о начале и ходологии путей, связывающих эти структуры, до сих пор является спорным. Вместе с тем эти связи и определяют роль данных структур в проявлении вегетативных и соматических элементов эмоциональных реакций организма [1, 17]. Описана крупная связка волокон, идущая от клеток поясной извилины к пресубикулуму, энторинальной коре и допущено наличие волокон, достигающих гиппокампа [12]. Имеются данные, указывающие на существование трех основ-

ных проекционных систем к гиппокампу: форникально-лимбико-гипоталамического, лимбико-гиппокампального и капсулярного пучков. Беря начало в поясной извилине, лимбико-гиппокампальный путь перфорирует мозолистое тело, переходит в фимбрию и, вместе с ее волокнами, достигает поля  $H_2$  гиппокампа [2,8—10,14]. Наряду с этим имеются исследования, внесшие сомнения относительно существования проекций к самому гиппокампу [3, 4, 13, 22]. Все это послужило поводом для изучения методом вызванных потенциалов связей поясной извилины и гиппокампа.

### МЕТОДИКА

Опыты ставились на ненаркотизированных кошках со стереотаксически вживленными в поясную извилину, гиппокамп и энторинальную кору константовыми электродами. Диаметр неизолированного кончика электрода 100—200 мк. Отведение электрической активности осуществлялось с помощью монополярных, раздражение — с помощью биполярных

электродов (прямоугольные толчки тока 0,2 мс) от генератора с высокочастотным выходом. Регистрация производилась 8-канальным электроэнцефалографом фирмы «Медикор» и двухлучевым катодным осциллографом «Диза электроник». Локализация электродов верифицировалась на фронтальных серийных срезах мозга.

### РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

В зависимости от силы и частоты применяемого раздражения передней

поясной извилины наблюдались различные по своему характеру поведе-



ния животного, с сопутствующими им изменениями в электрической активности структур мозга. Надпороговая стимуляция поля 24 вызвала сонное состояние кошки: она сворачивалась в клубок и, удобно устроившись, засыпала. Некоторое усиление раздражения (4В) вызывало реакцию настороженности, переходящую в реакцию страха (расширение зрачков, избегание, уринация), а при прекращении раздражения — голосовые реакции. Одновременно в электрической

метить, что в электрической активности вентрального гиппокампа в ответ на раздражение передней поясной извилины не было значительных отклонений (рис. 1, 1—4). Такая же картина имела место при применении низкочастотного раздражения (8—10 в с) передней поясной извилины. Изменения в электрической активности были наиболее выражены в дорсальном гиппокампе (рис. 2). При высокочастотном (200 в с) электрическом раздражении поля 24, когда

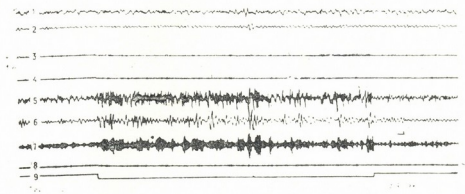


Рис. 1. Изменение электрической активности вентрального (1) и дорсального (5) гиппокампа, вызванные раздражением ипсилатерального отдела передней поясной извилины. Спектральный анализ дельта-, тета- и альфаритмов вентрального (2, 3, 4) и дорсального (6, 7, 8) гиппокампа; 9 — отметка раздражения поясной извилины. Момент раздражения — опускание линии вниз. Калибровка на рис. 1—3: амплитуда — 200 мкВ, время — 1 с

активности дорсального гиппокампа отмечалась высокоамплитудная синхронизированная активность (рис. 1). Как показал спектральный анализ, данный эффект можно отнести за

силу стимула бывала выше надпороговой, часто возникали судорожные разряды в регистрируемых структурах мозга: они были наиболее выражены опять-таки в дорсальном гип-

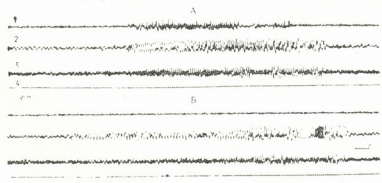


Рис. 2. Елияние низкочастотных раздражений передней поясной извилины (6В, 8 в с) на электрическую активность ипсилатерального вентрального (1), дорсального (2) гиппокампа и энторинальной коры (3); 4 — отметка раздражения; А — до перерезки между передней и задней поясной извилинами; Б — после перерезки

счет увеличения в амплитуде и частоте дельта- и тета-ритмов. Следует от-

покампе (рис. 3А). В вентральном гиппокампе и энторинальной коре



эпилептиформные разряды незначительной амплитуды и возникают с большим скрытым периодом.

Эти данные говорят о возможном наличии прямых, коротких связей между передним отделом поясной извилины и дорсальным гиппокампом. В литературе имеются указания о терминальной дегенерации волокон в задней цингулярной коре при повреждении поля 24 [2], а также о возникновении вызванных потенциалов по всей длине поясной извилины

при возникновении отделов дорсального гиппокампа принимают участие и прямые связи между этими образованиями.

Результаты опытов с низкочастотным раздражением подтвердились данными, полученными в опытах с вызовом эпилептиформных разрядов при раздражении передней поясной извилины. Судорожные разряды после перерезки продолжали регистрироваться и по своим характеристикам были идентичны регистрируемым

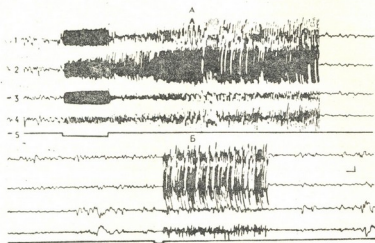


Рис. 3. Влияние раздражения поля 24 (10 В, 200 в с) на электрическую активность ипсилатеральной задней поясной извилины (1), дорсального (2), вентрального (3) гиппокампа и энторинальной коры (4); А — до перерезки поясной извилины; Б — после перерезки

при стимуляции ее переднего отдела [5, 24]. Исходя из этих данных, встал вопрос, не являются ли ответы гиппокампа результатом распространения импульсов по внутрицингулярным путям от переднего отдела поясной извилины через задний отдел? Для выяснения этого вопроса были поставлены опыты с разобщением прямых связей между передним и задним отделами поясной извилины. Производилась перерезка извилины на границе между этими отделами. Опыты показали возможность генерации ответов в гиппокампе при раздражении передней поясной извилины, минуя задний цингулярный отдел (рис. 2Б, 3Б). В случае низкочастотных раздражений передней поясной извилины ответы особенно отчетливо представлены в дорсальном гиппокампе (рис. 2Б). Иначе говоря, эти ответы возникали помимо участия задней поясной извилины, т. е. при раздражении ее переднего отдела; в

в дорсальном гиппокампе до перерезки цингулярной коры (рис. 3Б). Эпилептиформные разряды продолжали регистрироваться и в задней поясной извилине, но относительно малой амплитуды (рис. 3Б). Возникновение этих разрядов, очевидно, связано с вовлечением в активность нервных связей, существующих помимо внутрицингулярных.

Для проверки выдвинутого нами предположения о возможности наличия прямых связей между полем 24 и дорсальным гиппокампом были проведены опыты с одиночным раздражением передней поясной извилины. На одиночную стимуляцию в дорсальном гиппокампе регистрировались хорошо выраженные стабильные вызванные потенциалы, конфигурация которых претерпевала изменения в зависимости от интенсивности стимула (рис. 4). Порог вызова ответа был довольно низок (0,5 В), вызванные потенциалы — высокой амплитуды;

латентность их возникновения была в пределах 1,5—2 мс. При усилении стимуляции поля 24 обе фазы ответа — положительная и отрицательная — постепенно углублялись; регистрировались и дополнительные компоненты ответа (рис. 4; 2—5). При этом

Низкий порог вызова ответа, малый скрытый период, высокая амплитуда и стабильность вызванного потенциала в ответ на одиночное раздражение переднего отдела поясной извилины, а также наибольшая выраженность изменений электрической активности дорсального гиппокампа, как при высокочастотной, так и низкочастотной стимуляциях, дают основание предполагать, что, помимо известных внутрицигулярных связей, в генезе ответов гиппокампа принимают участие и нейронные связи, которые связывают между собой как отдельные цингулярные поля, так и цингулярные поля с дорсальным гиппокампом. Следует предполагать наличие короткого, вероятно, моносинаптического, нервного пути между этими структурами.

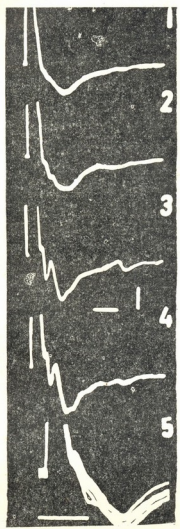


Рис. 4. Ответы дорсального гиппокампа, вызванные одиночным раздражением ипсилатеральной поясной извилины. Ответвления: 1 — 0,5 В; 2 — 1 В; 3 — 1,5 В; 4 — 2 В; 5 — 3 В, 1 в с. Калибровка времени — 5 мс, амплитуды — 200 мкВ

Полученные данные не исключают наличия полисинаптических связей между полем 24 и дорсальным гиппокампом [6, 7]. По данным ряда авторов области поясной извилины проецируются к гиппокампу через серию коротколатентных переключений. Предполагается наличие хотя бы одного переключающего синапса в энторинальной коре, парасубикулуме или субикулуме [18, 23]. О наличии мультисинаптических связей говорят не только имеющиеся морфологические данные [2, 4, 21], но и эффекты, регистрируемые в опытах с перерезкой поясной извилины (рис. 2,3), в таких структурах мозга, как цингулярная кора и энторинальная кора.

При изучении ответов поясной извилины на электрическую стимуляцию гиппокампа нами была показана возможность наличия коротколатентных нейронных связей между дорсальным гиппокампом и полем 24. При сравнении этих данных с данными настоящего исследования, можно предположить, что между передней поясной извилиной и дорсальным гиппокампом, имеются, по всей видимости, моносинаптические двусторонние связи.

скрытые периоды ответов дорсального гиппокампа оставались неизменными, т. е. в пределах 1,5—2 мс. Этот факт говорит о том, что при разных силах раздражения активировались одни и те же прямые пути, соединяющие переднюю поясную извилину с дорсальным гиппокампом.

ЛИТЕРАТУРА

1. Бериташвили И. С. Нервные механизмы поведения высших позвоночных животных, «Наука», М., 1961.
2. Замбрицкий И. А. Лимбическая область большого мозга, «Медицина», М., 1972.
3. Сотниченко Т. С. Физиол. ж. СССР, 54, 678—683, 1968.
4. Сотниченко Т. С. Ж. эвол. биохим., физиол., 6, 571—576, 1970.
5. Сотниченко Т. С. Арх. анат., 43, 3—10, 1962.
6. Унгиадзе А. А. Сообщения АН ГССР, 96, 437—440, 1979.
7. Унгиадзе А. А. Нейрофизиология, 13, 7—13, 1981.
8. Филлимонов И. Н. Сравнительная анатомия коры большого мозга млекопитающих, «Медицина», М., 1949.
9. Шипов Н. Н. Цитировано по Замбрицкий И. А., «Медицина», М., 1972.
10. Adey W. R. Brain, 74, 233—247, 1951.
11. Adey W. R., Meyer M. J. Anat., 86, 358—384, 1952.
12. Cajal R. S. Studies of the Cerebral Cortex, London, Lloyd-Luke, 1955.
13. Domesick V. B. Brain Res., 12, 296—320, 1969.
14. Gardner W. D., Fox C. A. Anat. Rec., 100, 663—674, 1948.
15. Lorente de Nó R. J. Psychol. Neurol., 46, 113—177, 1934.
16. Nauta W. J. J. Comp. Neurol., 104, 247—263, 1956.
17. Papez I. W. Arch. Neurol. Psychiat., 38, 725—732, 1937.
18. Raisman G., Cowan W. M., Powell T. P. S. Brain, 88, 963—996, 1965.
19. Raisman G., Cowan W. M., Powell T. P. S. Brain, 89, 83—108, 1966.
20. Rose I., Woolsey C. N. J. Comp. Neurol., 89, 279—347, 1948.
21. Van Hoesen G. W., Pandya D. W. Brain Res., 95, 39—59, 1975.
22. White L. E., J. Comp. Neurol., 113, 1—17, 1959.
23. White L. E., Nelson W. M., Foltz L. E. Exp. Neurology, 2, 406—421, 1960.
24. Wight R. R., Ward J. M. Electroenceph., clin. Neurophysiol., 20, 591—602, 1966.

დორსალური ჰიპოკამპის ელექტრული აქტივობის ცვლილება სარტყელის ხვეულის წინა ნაწილის გაღვივების საპასუხოდ

ა. უნგიაძე

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

რეზიუმე

შესწავლილ იქნა კატის სარტყელის ხვეულის წინა ნაწილის გაღვივების გავლენა დორსალური ჰიპოკამპის ელექტრულ აქტივობაზე. სარტყელის ხვეულის რიტმული გაღვივება იწვევს სინქრონიზაციას და ებილედუსურ განმუხტვებს დორსალურ ჰიპოკამპში; ვენტრალურ ჰიპოკამპში ასეთი ცვლილებები ან არ აღირიცხება, ან ნაკლებად არის გამოხატული.

სარტყელის ხვეულის წინა ნაწილის ერთხელობრივი ელექტრული გაღვივებით დორსალურ ჰიპოკამპში აღმოცენდება გამოწვეული პასუხები. ამ პასუხების ფარულ პერიოდთა მიხედვით (1,5—2 მს) უნდა ვივარაუდოთ, რომ დორსალური ჰიპოკამპის პასუხები მოკლე ნეირონული გზით აღმოცენდება.

# CHANGES IN ELECTRICAL ACTIVITY OF THE DORSAL HIPPOCAMPUS INDUCED BY CINGULATE GYRUS STIMULATION



A. A. UNGIADZE

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

## Summary

The functional relationships of the anterior cingulate gyrus and dorsal hippocampus were studied in chronic cats. Single electrical stimulation of the anterior cingulate gyrus elicited responses with shortest latency (1.5—2 msec) in dorsal hippocampus. It is suggested that the short neuronal pathways should be involved in the genesis of the dorsal hippocampus responses.



УДК. 581.3.351

ЦИТОЛОГИЯ

## ЭЛЕКТРОННОМИКРОСКОПИЧЕСКОЕ ИЗУЧЕНИЕ СИНЕРГИД ДО ОПЛОДОТВОРЕНИЯ У КУКУРУЗЫ С ЦИТОПЛАЗМАТИЧЕСКОЙ МУЖСКОЙ СТЕРИЛЬНОСТЬЮ

Н. С. Мелия

*Институт ботаники АН ГССР, Тбилиси*

Поступила в редакцию 17.12.1981

В работе представлены результаты сравнительного электронномикроскопического исследования синергид в неоплодотворенных зародышевых мешках (до цветения) двух стерильных форм кукурузы: ВИР 44Т, ВИР 44М, их фертильного аналога ВИР 44 и фертильной формы ВИР 38 закрепитель.

Описаны некоторые различия в ультраструктуре эндоплазматического ретикулама, пластид и митохондрий у фертильных и стерильных форм, на основании которых можно судить о наличии влияния цитоплазматической мужской стерильности (ЦМС) уже на этапе молодого зародышевого мешка.

Приводится материал, свидетельствующий о более высокой метаболической активности синергид стерильных растений сравнительно с фертильными.

Изучение ЦМС имеет огромное как теоретическое, так и практическое значение. Стерильность определяет целый ряд процессов, протекающих в живом организме. Растения, характеризующиеся ЦМС, широко используются в селекции растений, как ценный материал, облегчающий осуществление процесса гибридизации.

Известно, что фактор ЦМС реализуется через яйцеклетку. В связи с

этим мы задались целью провести сравнительное изучение органелл клеток яйцевого аппарата фертильных и стерильных растений кукурузы для установления влияния ЦМС на их ультраструктуру.

В настоящей работе представлены результаты исследования ультраструктуры синергид, имеющих важное значение в системе яйцевого аппарата.

### МАТЕРИАЛ И МЕТОДИКА

Объектом исследования послужили неоплодотворенные семечки (до цветения) двух форм кукурузы с ЦМС: ВИР 44 с Техасским и ВИР 44 с Молдавским типом стерильности. В качестве контроля исследовали их фертильный аналог ВИР 44, а также фертильную форму ВИР 38 закрепитель.

Семечки фиксировали в 3%-ном растворе глутаральдегида в течение четырех часов, с постфиксацией в 1,5%-ном растворе четырехоксида ос-

мия в течение 18 часов. После промывки в фосфатном буфере (рН—7,4) и обезвоживания в возрастающих сериях спирта материал выдерживали ночь в 1%-ном растворе уранилацетата (в 70%-ном этаноле) и заливали в смесь эпон-аралдит. Ультратонкие срезы готовили на ультратоме LKB-III и контрастировали цитратом свинца по Рейнольдсу [12].

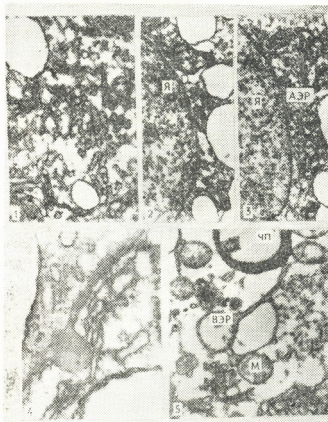
Материал просматривали в электронном микроскопе Tesla BS-613.

Как показали наши исследования, синергиды фертильных форм растений в базальной части окружены хорошо сформированной оболочкой, а в апикальной — ограничены лишь плазменной мембраной. Отсутствие оболочки в этой части клетки, по мнению исследователей, должно способствовать беспрепятственному проникновению ядер спермиев в яйцеклетку и центральную клетку. В

аппарата концентрируются липидные капли (рис. 2—1,2).

Ядра синергид овальной формы. Ядрышко крупное, содержит электронносветлое пространство (рис. 3—1). Нуклеоплазма умеренно-гранулярна (рис. 1—2,3). Ядра синергид занимают центрально-боковое положение, многочисленные же оргanelлы расположены между ядром и нитчатым аппаратом, в центральной

Рис. 1. Фрагменты синергид фертильной формы кукурузы ВИР 44: 1 — пузырьки Гольджи в средней части клетки.  $\times 22000$ ; 2, 3 — часть ядра и агранулярный трубчатый ЭР  $\times 12500$ ; 4 — переход липидной капли из синергиды в яйцеклетку через плазмалемму.  $\times 46000$ ; 5 — апикальная часть, контакт вакуолей с ЭР.  $\times 15500$ . Обозначения (здесь и на всех рисунках): Я — ядро; Ядр — ядрышко; М — митохондрия; П — пластида; ЭР — эндоплазматический ретикулум; Чп — чашевидная пластида; Пг — пластоглобула; лк — липидная капля; ВЭР — вакуолеобразное расширение ЭР; д — диктиосома; Лп — лейкопласт; Мт — микротельце; урп — участок разошедшихся плазмалемм; Пд — плазмодесма; ЯК — яйцеклетка; а — амилопласт



средней части, между сестринскими синергидами, а также в межклеточной оболочке с яйцеклеткой, выявлены плазмодесмы (рис. 4—2). Отсутствие оболочки в апикальной части всех клеток яйцевого аппарата и наличие плазмодесм между ними отмечалось как у кукурузы [6, 7, 8], так и у других растений [5, 9, 10, 11, 13].

Полисахаридный нитчатый аппарат хорошо развит и содержит светлые и темные участки аморфного материала (рис. 2—1). Пальцеобразные выросты нитчатого аппарата окаймлены одинарной мембраной, которая, как показали многочисленные электронномикроскопические исследования, является продолжением плазменной мембраны клетки. В зоне нитчатого

части клетки. Число оргanelл меньше в апикальной части, где располагаются все увеличивающиеся в объеме вакуоли.

Пластиды, представленные лейкопластами, разбросаны по всей клетке, но чаще располагаются в центральной и апикальной частях клетки. Имеются и пропластиды (рис. 2—2). Встречается также чашевидная инвагинация пластид (рис. 1—5). Пластиды синергид кукурузы крахмала не содержат, что отмечалось и другими исследователями [7, 8, 6].

Митохондрии в синергидах разнообразны по структуре. Они в основном встречаются в центральной части клетки и около нитчатого аппарата, часто имеют электронно-светлый мат-

рикс, а узкие кристы видны в перифериях органеллы (рис. 1—5 и 2—2). Реже встречаются митохондрии с хорошо развитыми кристами (рис. 1—1, 2, 3).

малемму между синергидой и яйцеклеткой (рис. 1—4). Вакуоли много численны, особенно в апикальной части. Часто возникает близкий контакт вакуолей с ЭР (рис. 1—5), что

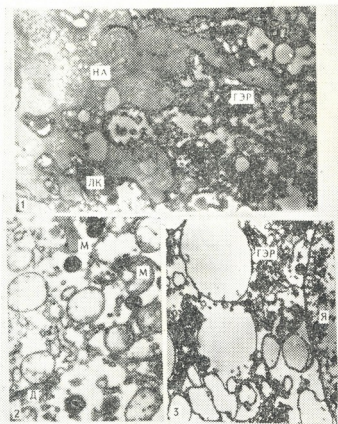


Рис. 2. Фрагменты синергид фертильной формы кукурузы ВИР 38 закр.: 1 — базальная часть, нитчатый аппарат, гранулярный ЭР.  $\times 10500$ ; 2 — базальная часть, митохондрии.  $\times 15500$ ; 3 — часть ядра, гранулярный ЭР.  $\times 10500$

Аппарат Гольджи хорошо сформирован в базальной части клетки (рис. 2—2). Диктиосомы состоят из 4—5 регулярно сложенных цистерн и нескольких пузырьков. В средней части клетки от цистерн диктиосом отчленяется большое число пузырьков, которые возрастают в размере по мере удаления от цистерн (рис. 1—1).

Характерной особенностью синергид фертильных форм является фрагментация на пузырьки и трубочки цистерн гладкого ЭР (рис. 1—2,3 и 2—2), причем чаще встречается у формы ВИР 44Ф. Такую форму ЭР описывают у кукурузы также Диболл и Ларсон [7]. Имеется и гранулярный ЭР, который обычно располагается около нитчатого аппарата (рис. 2—1) и близко к плазмалемме. У формы ВИР 38 закрепитель гранулярный ЭР встречается чаще. Иногда к тяжам ЭР прикреплены сферические одномембранные тельца с плотным содержанием, похожим на липидные капли (рис. 2—1,3). Нами наблюдался переход отмеченных капель через плаз-

мат подтверждает факт об образовании вакуолей из ЭР.

Синергиды растений с ЦМС по своей ультраструктуре схожи с синергидами фертильных растений, однако выявляется и различие в ультраструктуре некоторых органелл цитоплазмы. Оно проявляется в структурной морфологии ЭР. Слабо-гранулярный ЭР собран местами в отдельные свернутые пучки (рис. 3—1 и 4—4), и локализован в основном в средней части клетки, причем количество его больше у формы ВИР 44М. Интересно, что между описанными участками ЭР встречаются диктиосомы, цистерны которых также свернуты в кольца (рис. 3—1), что подтверждает очевидную связь между ними. У обеих стерильных форм, подобно фертильным, встречается также гранулярный ЭР, ближе к ядру (рис. 4—1). В этой части имеются диктиосомы, состоящие из 5—6 ровных цистерн и крупных пузырьков (рис. 3—3).



В синергидах стерильных растений чаще встречаются пластиды с плотной стромой, различной формы: вытянутые, гантелеобразные, круглые, овальные (рис. 3—1,2). Иногда наблюдается деление таких пластид путем перетяжки (рис. 3—1). Чашевидная инвагинация пластид встречается чаще, чем в фертильных формах, в матриксе которых выявляются рибосомы (рис. 4—1), осмиофильные глобулы (рис. 4—3), а также цистерны ЭР (рис. 3—3).

щей наружной оболочкой (рис. 3—2 и 4—4), что, по мнению Дженсена [9], может означать фазу деления митохондрий с дальнейшим синтезом наружной мембраны. Обилие рибосом и полисом чаще наблюдается в плазме синергид кукурузы ВПР 44Т (рис. 4—1). У обеих форм встречаются органеллы, схожие с микротельцами (рис. 3—2 и 4—1). В зоне нитчатого аппарата скапливается больше липидных капелек по сравнению с фертильными формами.

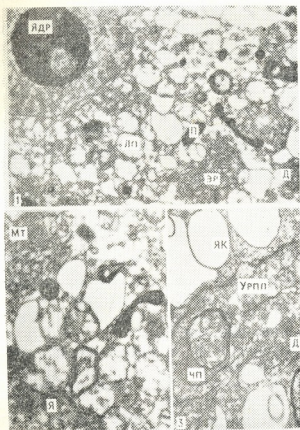


Рис. 3. Фрагменты синергид стерильной формы кукурузы ВПР 44 М: 1 — ЭР, собранный в отдельные свернутые пучки, пластиды с плотной стромой.  $\times 12\,500$ . 2 — средняя часть, митохондрии с частично отсутствующей наружной оболочкой.  $\times 12\,500$ ; 3 — апикальная часть, крупные пузырьки Гольджи.  $\times 12\,500$

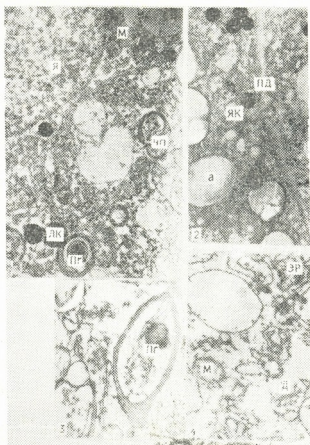


Рис. 4. Фрагменты синергид стерильной формы кукурузы ВПР 44 Т: 1 — средняя часть, обилие рибосом.  $\times 10\,500$ ; 2 — плазмодесма в межклеточной оболочке с яйцеклеткой.  $\times 10\,500$ ; 3 — апикальная часть, чашевидная инвагинация пластиды.  $\times 22\,000$ ; 4 — апикальная часть, почкование митохондрий.  $\times 22\,000$

Митохондрии в стерильных формах более разнообразны. Наряду с хорошо сформированными митохондриями, имеются также митохондрии почти разрушенные, иногда с трудно различимым матриксом и очертаниями (рис. 3—1 и 4—1). Митохондрии, сконцентрированные вокруг ядра, всегда мелкие (рис. 4—1), но крыты у них развиты. Наблюдаются также митохондрии с частично отсутствующей

Структурные различия между сестринскими синергидами не наблюдались, но, в отличие от фертильных, в апикальной части клетки, между сестринскими синергидами и на границе с центральной клеткой, имеются участки разошедшихся плазмалемм (рис. 3—3).

Итак, как показали наши исследования, наиболее выраженную актив-





ность проявляют синергиды стерильных форм. Активность, прежде всего, выражается в наличии интенсивно развитой сети ЭР, различной структуры, большого количества аппарата Гольджи, многочисленных пластид и митохондрий. Наличие рибосом, как в свободном виде, так и собранных в полисомы, свидетельствует об интенсивном синтезе белков. Такая активность клетки, как известно, свойственна для секреторных клеток, а наличие плазмодесм и отсутствие оболочек в апикальной части подтверждает тесную взаимосвязь между клетками яйцевого аппарата, где синергиды исполняют в основном трофическую функцию.

Суммируя вышеприведенные данные, можно заключить, что отмеченное своеобразие ультраструктуры синергид стерильных форм является достаточным для утверждения, что действие ЦМС проявляется уже на этапе зрелого зародышевого мешка до оплодотворения.

Интересным представляется факт повышенной метаболической активности синергид стерильных растений. Известны работы, в которых в случаях морфо-физиологических и функциональных депрессий организма отмечается усиление физиологически активных реакций, например ферментативных [1, 4, 5]. Высокая степень физиологической активации рассматривается авторами в качестве компенсаторных процессов, направленных для реактивации той или иной депрессии организма, как проявление борьбы за существование [2].

В описанном нами случае, когда депрессия и аномалии касаются самых ответственных — репродуктивных — органов (стерильность пыльцы), тем более надо ожидать активации ряда физиолого-биохимических процессов, чем и можно объяснить наблюдаемые ультраструктурные особенности у стерильных растений кукурузы.

ЛИТЕРАТУРА

1. Алтергот Е. Ф. Тез. докл., Изд-во АН СССР, М.—Л., 1963, 46—48.
2. Благовещенский А. В. Докл. Всесоюз. совещ. по физиол. раст., I, 1946, 76—80.
3. Сакварелидзе И. М. Тр. Ин-та ботаники АН ГССР, Тбилиси, 1964, XXIII, 147—157.
4. Макаревская Е. Л. ДАН СССР, 78, 4, 54—59, 1951.
5. Плиско М. А. Бот. Ж. 62, 2, 161—172, 1977.
6. Чеботарь А. А. Эмбриология кукурузы, «Шттинца», Кишинев, 1972.

7. Diboll A. G., Larson D. A. Amer. J. Bot., 53, 4, 391—402, 1966.
8. Diboll A. G., Amer. J. Bot., 55, 7, 797—806, 1968.
9. Jensen W. A. Amer. J. Bot., 52, 3, 238—256, 1965.
10. Mogensen H. L. Amer. J. Bot., 59, 9, 931—941, 1972.
11. Newcomb W. Canad. J. Bot., 51, 5, 863—879, 1973.
12. Reynolds E. S. J. Cell Biol., 17, 208—212, 1963.
13. Schulz R. S., Jensen R. S. Amer. J. Bot., 55, 807—819, 1968.

სიმიონდის ციტოპლაზმური მამრობითი სტერილობის გქონდ ფორმების სინერგიდების ელექტრონულ-მიკროსკოპიული შესწავლა განაყოფიერებაში

ბ. პილია

საქართველოს სსრ მეცნიერებათა აკადემიის ბოტანიკის ინსტიტუტი, თბილისი

რ ე ზ ი უ მ ე

სტატიაში წარმოდგენილია სიმიონდის ფერტილური და სტერილური ფორმების სინერგიდების ორგანოების შედარებითი

ელექტრონულ-მიკროსკოპიული კვლევის შედეგები.

აღწერილია ზოგიერთი თავისებურება



სტერილური ფორმების სინერგიდების ენ-  
დოპლაზმური რეტიკულუმის, პლასტიდე-  
ბისა და მიტოქონდრიების ულტრასტრუქ-  
ტურაში. ამ ცვლილებების მიხედვით შე-  
იძლება ითქვას, რომ ცმს-ის გავლენა თავს  
იჩენს უკვე ფორმირებული ჩანასახის პარ-  
კში, განაყოფიერებამდე.

განხილულია იმის დამადასტურებელი  
მასალა, რომ ფერტილურთან შედარებით  
სტერილური ფორმების სინერგიდებს უფ-  
რო მაღალი მეტაბოლური აქტივობა გააჩ-  
ნიათ, ვიდრე ფერტილურ ფორმებს.

## AN ELECTRON MICROSCOPIC STUDY OF THE SYNERGIDS OF ZEA MAYS WITH CMS BEFORE FERTILIZATION

N. S. MELIA

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

### S u m m a r y

The results of a comparative electron  
microscopic study of the synergids in fer-  
tile and sterile forms of *Zea Mays* are  
presented.

Some peculiarities of the structure  
of ER, plastids and mitochondria are  
observed in the synergids of sterile forms.

It is supposed that the influence of CMS  
manifests itself already in the mature  
embryo sac before fertilization.

The synergids of sterile forms show  
higher metabolic activity, as compared  
with the fertile ones.

УДК 616—018

ПАТОЛОГИЧЕСКАЯ МОРФОЛОГИЯ

## МЕТАСТАЗИРОВАНИЕ ОПУХОЛИ БРОУН-ПИРС В УСЛОВИЯХ ПЕРЕГРУЗОК

В. К. Этерия, И. А. Ибатуллин

*Центральная городская больница, Ткварчели*

Поступила в редакцию 19.04.1982

В эксперименте на кроликах, под действием перегрузок, вызывалось направленное нарушение крово-лимфообращения в различных участках тела. При введении опухоли Броун-Пирс в яичко и в свободную брюшную полость метастазирование и имплантация опухолевых клеток, как правило, имели место в участках нарушенного крово-лимфообращения. Это позволяет автору говорить о возможности управляемого метастазирования опухоли Броун-Пирс в эксперименте.

Введение опухоли Броун-Пирс в свободную брюшную полость позволяет имитировать наблюдаемые в клинике опухолевые асциты и состояния после радикальных операций на брюшной полости по поводу злокачественных новообразований. Броуншвиц [12] после онкологических радикальных операций наполнял брюшную полость физиологическим раствором и затем, отсосав эту жидкость, центрифугировал ее и производил гистологические наблюдения. В исследуемой жидкости он обнаружил не только отдельные, но и целые конгломераты раковых клеток.

### МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ

Эксперименты поставлены на 88 (16 из них — контрольные) половозрелых кроликах породы шиншилла, весом 1800—2000 г. Опухолевая эмульсия Броун-Пирс вводилась в правое яичко кроликов, под белочную оболочку, в количестве 1,0 мл. Материалом служила первичная кроличья карцинома Броун-Пирс. Опухоль брали от половозрелого кролика той же породы и того же веса, которому предварительно прививали саркому Броун-Пирс в яичко и у которого в салнике развивались метастазы, не содержащие видимых очагов некроза. Опухоль сохраняли в течение су-

Вопросы развития и метастазирования опухоли Броун-Пирс изучены достаточно хорошо [10, 11]. Однако в доступной нам литературе мы не нашли данных, касающихся влияния перегрузок на метастазирование опухоли Броун-Пирс.

Основной целью наших экспериментов было изучение закономерностей метастазирования опухоли Броун-Пирс, инокулированной в яичко или в свободной брюшной полости кроликов, при действии продольных, разнонаправленных, переносимых, повторных перегрузок.

ток в холодильнике при температуре 4°C, после чего она прививалась подопытным кроликам в форме эмульсии. Эмульсия из раковой ткани готовилась тщательным растиранием материала с 0,9%-ным раствором хлористого натрия в разведении 1 к 4.

В другой группе опытов эмульсия в количестве 1,0 мл разводилась в 10,0 мл изотонического раствора, и эта смесь вводилась в свободную брюшную полость подопытным животным. Затем кролики подвергались действию переносимых ежедневных перегрузок в 2 g в течение 10—15

дней (время воздействия — 10 мин). Животные фиксировались на контейнере центрифуги головой и тазовой областью к периферии, животом вниз и подвергались действию перегрузок при вращении центрифуги по и против часовой стрелки. Наблюдения в динамике реализации метастазов осуществлялись путем лапароскопии, лапаротомии и биопсии. Определялась рН среды как в норме, так и в патологии [2].

Как контрольные, так и подопытные животные забивались на 5, 10, 15, 20, 30-е сутки. Часть животных забивалась путем внутривенного введения 5,0 мл лиственона в разные сроки от начала опытов. Сосудистая система инъецировалась водо-желатиновым раствором туши. Экспериментальный материал подвергался макро- и микроскопическому исследованию.

## РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

### Прививки опухоли Броун-Пирс в правое яичко

Модель I. Кролики подвергались действию перегрузок при фиксации их на контейнере центрифуги головой к периферии, животом вниз и при вращении животных по и против часовой стрелок.

на брюшине передне-боковых стенок живота и в диафрагме.

Через 15—20 дней от начала опытов количество метастазов в диафрагме увеличилось, отмечена асимметрия их расположения (рис. 1), зависящая от направления вращения центрифуги. Обнаружены метастазы на брюшной стенке, в брыжейке тонкой кишки, сальнике, почках и забрюшинном пространстве.



Рис. 1. Асимметрия расположения метастазов в диафрагме

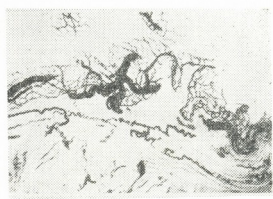


Рис. 2. Мочевой пузырь в зонах метастаза. Изменение подэпителиальной сети. Наливка тушью. Объектив 4,4. Гамаль 1,7 (300 мк)

Через 5 дней от начала опытов метастазы не выявлены. Правое яичко увеличено до размеров 1,6×2 см, плотное, бугристое, спаяно с окружающей клетчаткой. После увеличения яичка и регионарного лимфоузла в них гистологическими исследованиями выявлены метастазы опухоли.

Через 10 дней, при внимательном осмотре, обнаружены единичные метастазы в брыжейке тонкой кишки,

Через 25—30 дней от начала опытов, при вскрытии брюшной полости, у подопытных животных обнаружился кровянистый выпот. Метастазы опухоли Броун-Пирс были обнаружены по всей диафрагме, в сальнике, в правой и левой почках, передней брюшной стенке. Имело место полное обсеменение брыжейки тонкой кишки и частичное толстой, т. е. генерализация процесса метастазирования. В данной стадии не удалось





проследить за неравномерностью метастазирования опухоли в правой и левой половинах брюшной полости.

Следует отметить, что наличие серозно-кровоянистого выпота в брюшной полости в контрольных опытах выявлено в более ранние сроки. Кроме того, в контрольных опытах опухолевый рост имел наиболее генерализованный характер.

Модель II. Кролики подвергались действию перегрузок при фиксации их на контейнере центрифуги тазовой областью к периферии, животом вниз и при вращении животных по и против часовой стрелок.

Через 5 дней от начала опытов метастазы в брюшной полости не обнаружены.

Через 10 дней от начала опытов выпота в брюшной полости не обнаружено. Метастазы опухоли имели место в задне-боковых отделах брюшной стенки, полости малого таза, в задне-боковом отделе мочевого пузыря, у места проникновения в последний кровеносных и лимфатических сосудов (рис. 2). Кроме того, к этому сроку обнаружены спайки между сальниками и мочевым пузырем.

Через 10—15 дней у забитых кроликов увеличилось количество метастазов в задне-боковых отделах брюшной стенки. В малом тазу определяются конгломераты опухоли Броун-Пирс с вовлечением сальника и стенки мочевого пузыря. Метастазы обнаружены также у брыжеечного края, на месте перехода тонкой кишки в толстую.

Через 25—30 дней от начала опытов в брюшной полости забитых животных обнаружен серозно-кровояни-

стый выпот. Метастазы опухоли, образуя конгломераты, имели место в полости малого таза. Увеличилось их количество в серозе брюшной стенки — как справа, так и слева. Сплошь усеяна метастазами брыжейка толстой и тонкой кишки. Единичные метастазы определились в почках.

Таким образом, к 25—30 дням прививки опухоли Броун-Пирс в правое яичко кроликов на фоне генерализации опухолевого процесса отмечается большое количество метастазов в брюшинном отделе таза, крестцовой области и в районе позвоночника брюшной полости.

При изучении влияния перегрузок направления «таз-голова» выраженные нарушения крово-лимфообращения имеют место в краниальной части брюшной полости. Поэтому в наших опытах с данной моделью метастазы опухоли реализовались в тонком отделе кишечника, сальнике, диафрагме, боковых отделах брюшной стенки, а в более поздние сроки — на уровне вентральной поверхности почек. При направлении же «голова—таз» нарушение крово-лимфообращения имеет место в каудальной части брюшной полости, и поэтому метастазы определяются в участках перехода тонкой кишки в толстую, на дорсальной части мочевого пузыря, на сальнике, брюшине полости таза, боковой брюшной стенке, в каудальном ее отделе.

В наших моделях экспериментов отчетливо выявилась асимметрия расположения метастазов в правой и левой половинах туловища, в зависимости от направления вращения центрифуги.

### Введение эмульсии опухоли Броун-Пирс в свободную брюшную полость

Модель III. Действие перегрузок при фиксации кроликов головой к периферии.

Через 10 дней после введения в свободную брюшную полость эмульсии с опухолью Броун-Пирс у животных были обнаружены метастазы в краниально-вентральной половине туловища.

В I группе (вращение по часовой стрелке) множественные просовидные метастазы обнаружены в левой половине диафрагмы. Эти импланта-

ционные метастазы располагались в проекции кровеносных сосудов у места перехода мышечной части диафрагмы в сухожильную (рис. 3). В правой половине диафрагмы у этих животных обнаруживались лишь единичные, солитарные метастазы.

Во II группе (вращение против часовой стрелки) обнаружены множественные опухолевые узлы в правой половине диафрагмы.

В обеих группах данной экспериментальной модели мы наблюдали

наличие мелких просовидных метастазов в свободной части сальника. Концентрация опухолевых узлов больше выражена по ходу кровеносных сосудов.

Через 15—20 дней от начала опытов, при вскрытии полости подопытных животных, выпота не обнаружено. Увеличилось количество метастазов в диафрагме и передней части брюшной стенки. У животных, подвергнутых вращению по часовой стрелке, они больше определяются слева — как в брюшной стенке, так и левой половине диафрагмы.

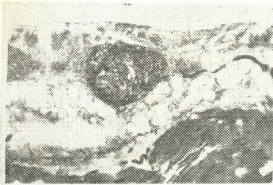


Рис. 3. Левая половина диафрагмы. Значительное утолщение брюшины. Расширенные лимфатические сосуды с метастазами. Окраска гематоксилином и эозином. Объектив 10. Гамаль 3

Большое количество метастазов определяется к этому сроку в брыжейке тонкой кишки. В сальнике они образуют конгломераты различных размеров, сливающиеся друг с другом и, в основном, расположенные по ходу кровеносных сосудов сальника.

Модель IV. Действие перегрузок при фиксации кроликов тазовой областью к периферии.

Через 10 дней от начала опытов были выявлены метастазы опухоли Броун-Пирс в боковых стенках тазовой полости, каудальной половине брюшной стенки. В группах животных, подвергнутых воздействию перегрузок по часовой стрелке, метастазы были обнаружены в правой половине брюшной стенки, брыжейке тонкой и толстой кишки, мочевом пузыре и брюшине таза.

Через 15—20 дней от начала опытов выявлено резкое увеличение метастазов в боковых стенках тазовой полости и брюшной стенке. В группе животных, подвергнутых воздействию

перегрузок с вращением по часовой стрелке, большое количество метастазов было обнаружено в правой половине брюшной стенки. Увеличилось их количество в брыжейке тонкой и толстой кишки, мочевом пузыре и брюшине таза; в большом сальнике наблюдалось образование опухолевых конгломератов (рис. 4).

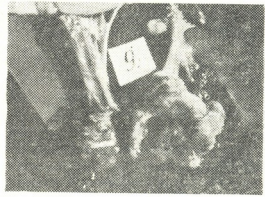


Рис. 4. Метастазы опухоли в сальнике. Образование конгломератов

У некоторых кроликов, при осмотре и гистологическом исследовании, выявлены метастазы опухоли в яичнике, что не происходило в экспериментах с перегрузками в направлении «голова-таз».

Через 25—30 дней от начала опытов, наблюдалась генерализация опухолевого процесса. У подопытных животных определяется серозно-кровообразный выпот в брюшной полости. В полости таза имели место конгломераты опухоли. Единичные метастазы выявлены в почках и диафрагме.

Характер метастазирования в данных моделях имеет двойное происхождение. Одна группа метастазов — лимфо-гематогенная, что подтверждается наличием в просвете кровеносных и лимфатических сосудов опухолевых эмболов. При другой же форме метастазирования — имплантационной, опухолевые метастазы тесно связаны с серозой брюшины и располагаются в местах брюшины с особенно интенсивными процессами всасывания, где кровеносных сосудов меньше, чем лимфатических [1], т. е. на поверхности диафрагмы, боковой стенке брюшной полости, на брюшине полости малого таза, термальных отделах тонкой кишки, а в некоторых случаях на серозе внутренних органов. Мы никогда не наблюдали им-

плантации метастазов в печени, селезенке.

Следует указать, что в контрольных опытах (без воздействия перегрузок) введение суспензии в свободную брюшную полость в большинстве случаев не приводило к реализации опухолей.

При имплантационных метастазах опухоль лежит на серозе и при инъекции сосудов тушью последние обнаруживаются вне опухоли. Сосуды в опухоль проникают вторично, т. е. путем роста из серозы в направлении опухоли. Локализация опухоли, как правило, соответствовала активным зонам резорбции жидкости. Части опухоли, имплантированные в сальнике, фиксировались с рядом лежащими органами и образовывали конгломераты, создавая впечатление имплантации метастазов в эти органы. Гистологические исследования, выполненные в этих случаях, позволяли обнаружить метастазы только в сальнике. Была выявлена отчетливая асимметрия реализации метастазов в правой и левой половинах туловища, в зависимости от направления вращения центрифуги.

Как показано нами ранее [3, 4, 5, 6, 7, 8, 9], при всех видах перегрузок имеют место нарушения крово-лимфообразования в условиях микроциркуляции, которые проявляются в дренирующих системах. Эти нарушения, в первую очередь, касаются венул и лимфатических сосудов как внутриорганных, так и внеорганных. Нарушение гомеостаза тканей, очевидно, вызвано тем, что при сохранившемся артериальном кровотоке большая по количеству масса крови находится в венах, создавая флебогипертонию с проникновением в интерстицию плазмы крови и повышением гидростатического давления, что приводит к диффузии интерстициальной жидкости в лимфатические капилляры. Резорбционная функция лимфатической системы, как и венозной, в этих условиях должна быть нарушена, так как проникающая в нее жидкость не может выводиться из нее в силу большой массы лимфы, которая устремляется в направлении действия гравитационных сил. Создается дополнительное пре-

пятствие для лимфооттока, что приводит к возникновению отека интерстиции с изменением коллоидно-осмотического состояния тканей и к изменению рН. Развивается явление тканевого ацидоза и гипоксии за счет нарушения проницаемости. Создаются анаэробные условия тканевого обмена, т. е. благоприятная, согласно Варбургу [13], среда для реализации опухоли и ее метастазов.

В наших экспериментальных моделях, помимо фактора повреждения ткани яичка при введении в него суспензии опухоли, создается дополнительный фактор, усиливающий альтерацию — гравитационные перегрузки, которые, нарушая условия гемокрикуляции, приводят к выраженному отеку.

Таким образом, на основании наших экспериментов, можно выделить следующие этапы имплантации и реализации опухоли Броун-Пирс.

Создавая гравитационные перегрузки различных направлений, мы достигаем перемещения массы крови и интерстициальной жидкости в определенные участки тела; при этом возникают нарушения крово-лимфообращения в тех же участках тела. Нарушения крово-лимфообращения вызывают изменения микроциркуляции за счет понижения резорбционной способности венозных и лимфатических сосудов, что приводит к отеку с изменением рН интерстициальной жидкости в сторону ацидоза. Ацидоз тканей способствует нарушению клеточного метаболизма, создавая условия для анаэробного обмена веществ.

Созданные таким образом условия нарушенного метаболизма тканей в сочетании с направленным под действием сил гравитации перемещением опухолевых клеток, находящихся в жидкой среде организма, создают условия для управляемого метастазирования и реализации опухоли Броун-Пирс в эксперименте в различные участки тела. Иначе говоря, проведенные наблюдения демонстрируют возможность изучения особенностей метастазирования и дальнейшего роста метастатических опухолей в условиях различных, заранее предусмотренных, регионов организма.



ЛИТЕРАТУРА

1. Жданов Д. А. Общая анатомия и физиология лимфатической системы, Медгиз, Л., 1962.
2. Ибатуллин И. А. Клиническая анатомия грудного лимфатического протока. Этиология и патогенез лимфоистечений. Автореф. докт. дисс., М., 1974.
3. Этерия В. К. Сабчота медицина, 4, 34—37, 1975.
4. Этерия В. К. Изв. АН ГССР, сер. биол., 2, 3, 230—235, 1976.
5. Этерия В. К. Сабчота медицина, 4, 43—46, 1976.
6. Этерия В. К. Сообщения АН ГССР, 84, 2, 485—488, 1976.
7. Этерия В. К. Сообщения АН ГССР, 84, 3, 729—731, 1976.
8. Этерия В. К. Сборник участкового врача, «Сабчота Сакартвело», Тбилиси, 1977.
9. Этерия В. К. Изв. АН ГССР, сер. биол., 3, 6, 550—555, 1977.
10. Brawn W. H., Pearce L. Soc. Exp. Biol. Med. 20, 472—476, 1922—1923.
11. Braun W. H., Pearce L. Soc. Exp. Biol. Med., 21, 373—375, 1923—1924.
12. Braunschwig A. В сб.: Международный конгресс хирургов, М., 1957.
13. Worburg O. W., Gawehn K., Geisler A. Klin. Wschr., 3, 6, 289—293, 1965.

ბროუნ-პირსის სიმსივნეთა მეტასტაზირება ორბანიზმის  
ბალატვირთვის პირობებში

ა. თთერია, ი. იბატულინი

ქ. ტყვარჩელის ცენტრალური საავადმყოფო

რ ე ზ ი უ მ ე

გადატვირთვის ზემოქმედებით გამოწვეულ იქნა სისხლისა და ლიმფის მიმოქცევის წინასწარ გათვალისწინებული დარღვევები ბოცვრის სხეულის სხვადასხვა ნაწილში. საკვერცხეებსა და თავისუფალ მუტელის ღრუში ბროუნ-პირსის შტამის გადანერგვა იწვევდა სიმსივნური უჯრედ-

ბის მეტასტაზირებას და მათ იმპლანტაციას იმ უბნებში, სადაც დარღვეული იყო სისხლისა და ლიმფის მიმოქცევა.

გამოთქმულია მოსაზრება, რომ ექსპერიმენტულად შესაძლებელია მეტასტაზირება წინასწარ გათვალისწინებული გეზით.

METASTATIC SPREADING OF BROWN-PEARCE TUMOR IN THE  
CONDITIONS OF OVERLOADING

V. K. ETERIA, I. A. IBATULLIN

Central City Hospital, Tkvarcheli, Abkhazian ASSR

Summary

In the experiments on rabbits directed disturbance of blood and lymph circulation in different parts of the body were provoked under the conditions of overloading.

When Brown-Pearce tumor was introduced into the ovum and free abdomin-

al cavity, metastatic spreading and implantation of tumor cells occurred, as a rule in the parts of the body with disturbed blood and lymph circulation. This fact allows to speak about the possibility of controlled metastatic spreading of Brown-Pearce tumor in the experiment.





УДК 612.015.33

**ИССЛЕДОВАНИЕ ВЛИЯНИЯ БЕЛКОВОГО ИЗОЛЯТА ИЗ СУБПРОДУКТОВ ПТИЦ НА ЖИВОТНЫЙ ОРГАНИЗМ**

**Г. З. Григорашвили**

*НИИ санитарии и гигиены им. Г. М. Натадзе МЗ ГССР, Тбилиси*

Поступила в редакцию 27.07.1981

В опытах на белых крысах исследовано влияние белкового изолята из субпродуктов птиц (отбросы птицеводства) на животный организм. Биохимическими, морфологическими и гистохимическими методами изучена реакция организма крыс на поступление данного белка (животные получали его в составе пищевого рациона по 18 и 36%). Показано, что белковый изолят из субпродуктов птиц не влияет на структурную целостность исследуемых паренхиматозных органов и не проявляет какого-либо токсического действия. Данные биохимических и морфологических исследований согласуются между собой.

В настоящее время изыскание новых и дополнительных источников пищевого и кормового белка с целью ликвидации существующего дефицита этого продукта является одним из важнейших направлений в современной науке о питании.

Успешное решение проблемы белка тесно связано с наличием дешевого сырья. На птицефабриках после забоя птиц остаются большие количества субпродуктов, представляющих собой основную часть желудочно-кишечного тракта. Этот вид сырья, который не используется и полностью отбрасывается, содержит значительное количество белка (18% на сухой вес).

В связи с этим была поставлена задача использовать субпродукты птиц в качестве возможного сырья для получения белкового препарата. По предлагаемой нами технологиче-

ской схеме из субпродуктов можно выделить 10% изолята с 90%-ным содержанием белка [1]\*. Для применения белкового изолята из субпродуктов птиц в качестве дополнительного источника белка необходима наиболее полная информация о его биологическом действии. Изучение возможного токсического действия белкового изолята на животный организм является важным этапом исследования белков, предназначенных для использования в питании человека и животных.

Целью настоящей работы явилось изучение влияния на организм крыс белкового изолята из субпродуктов птиц. Данная работа представляет только первый этап исследований с целью определения пригодности данного белкового препарата для применения в зоотехнической практике.

**МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ**

В эксперименте изучали влияние на организм крыс двух диет: 1 — белковый изолят из субпродуктов птиц (опытная диета) и 2 — казеин (контрольная). Опыт был проведен на 100 беспородных крысах с исходной массой 55 г (4 группы по 25 живот-

ных в каждой). Животные I группы в составе пищевого рациона получали

\* Способ получения белкового изолята оформлен как заявка на получение авторского свидетельства под № 3266397/13 от 13 апреля 1981 г.

18% белкового изолята из субпродуктов птиц, II — 18% казеина, III — 36% белкового изолята, IV — 36% казеина\*\*. Длительность эксперимента составляла 60 дней.

Состояние животных оценивали по интегральным показателям (масса, выживаемость, активность поедания пищи, общее состояние) и чувствительным при изучении воздействия белков на животный организм [2]. При морфологическом изучении состава крови определяли содержание гемоглобина, лейкоцитов, эритроцитов [4]. Проводили биохимические исследования сыворотки крови на содержание общего белка и белковых фракций [5]. Изучали активность аланин и аспаратаминотрансферазы (КФ 2.6.1.2 и 2.6.1.1) в сыворотке крови [6]. При забое определяли массовые коэффициенты внутренних органов [2].

Помимо биохимических, нами проведены морфологические исследова-

ния на 20 крысах в идентичных 4-х группах эксперимента.

Материал для патоморфологического и гистохимического исследований брали из различных участков внутренних органов: печени, почек, сердца, а также семенных желез. После соответствующей фиксации в 12%-ном формалине срезы окрашивали гематоксилин-эозином и пикрофуксином по ван Гизону. Помимо морфологических критериев, применялись также гистохимические исследования по выявлению ДНК, РНК, гликогена и кислых мукополисахаридов. Гликоген выявлен по методу Шабадаша; нейтральные и кислые мукополисахариды — по Хейлю, РНК — по методу Бреше, а ДНК — по Фелгену-Россенбека. Для оценки содержания гликогена в печени и семенниках использовали полуколичественный метод Л. М. Романенко и В. И. Сватова [3].

## РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

Поступление белкового изолята из субпродуктов птиц в организм животных в концентрациях 18 и 36% не

Диета, состоящая из 18 и 36% белкового изолята из субпродуктов птиц и казеина, не вызывала в крови жи-

Таблица 1

Относительные весовые коэффициенты внутренних органов крыс, получавших белковый изолят из субпродуктов птиц и казеина

Концентрация белка	Группа	Внутренние органы			
		Печень	Почки	Надпочечники	Селезенка
18%	Опытная	3,90±0,10	0,95±0,03	0,037±0,002	0,45±0,030
	Контрольная	3,78±0,17	0,88±0,022	0,034±0,012	0,420±0,033
36%	Опытная	4,92±0,3	0,99±0,02	0,029±0,010	0,42±0,020
	Контрольная	4,4±0,45	0,98±0,060	0,035±0,002	0,43±0,046

отражалось на изменении относительного веса внутренних органов крыс (табл. 1).

Не отмечено токсического влияния образца опытного белка на активность ферментов крови (табл. 2).

\*\* Все животные находились на полусинтетической диете, разработанной в Институте питания АМН СССР. Рационы были изокалорийные и содержание белков в них уравнявалось за счет добавления эквивалентных количеств кукурузного маисового крахмала.

вотных достоверных изменений активности изученных ферментов.

Исследование морфологического состава периферической крови показало, что в течение эксперимента наблюдалось некоторое снижение количества гемоглобина в сыворотке крови у крыс III группы (10,7±0,2%) по отношению к контролю (табл. 3).

Соответственно с гемоглобином снижалось количество эритроцитов (44,4±0,25 млн) и лейкоцитов (8,98±



$\pm 0,39$  тыс.); эти различия имели статистически достоверное значение ( $P < 0,05$ ).

Анализ крови на содержание общего белка и белковых фракций различия в уровне белка не показал. Изменения в соотношениях белковых фракций в сыворотке крови крыс опытной и контрольной групп отмечены не были.

тозных органов полностью согласуются с результатами биохимических исследований.

При морфометрическом анализе установлено, что содержание гликогена в печени животных I группы составляет  $3,5 \pm 0,2$  в центре и по периферии долек, у контрольной группы —  $2,65 \pm 0,2$  в центре и  $2,88 \pm 0,1$  по периферии долек ( $P < 0,05$ ). У животных,

Таблица 2

Влияние белкового изолята из субпродуктов птиц и казеина на активность аминотрансфераз сыворотки крови

Группа крыс	Активность АЛАТ (мкмоль/мин) на 1 мл сыворотки	Активность АСАТ (мкмоль/мин) на 1 мл сыворотки
I (опытная)	$0,020 \pm 0,001$	$0,013 \pm 0,001$
II (контрольная)	$0,020 \pm 0,0015$	$0,010 \pm 0,001$
III (опытная)	$0,017 \pm 0,002$	$0,010 \pm 0,001$
IV (контрольная)	$0,021 \pm 0,0006$	$0,012 \pm 0,0005$

В результате патоморфологических исследований было установлено, что при вскармливании экспериментальных животных 18 и 36%-ным белковым изолятом во внутренних органах,

получавших 36% белкового изолята из субпродуктов птиц (III группа), количество гликогена в печени определяется как  $1,97 \pm 0,2$  в центре долек и  $2,67 \pm 0,1$  по периферии; у крыс, по-

Таблица 3

Биохимические показатели периферической крови экспериментальных животных при действии белкового изолята из субпродуктов птиц и казеина

Показатели	Белковый изолят из субпродуктов птиц		К а з е и н	
	I группа	III группа	II группа	IV группа
Гемоглобин (г %)	$13,7 \pm 0,4$	$10,7 \pm 0,20$	$13,4 \pm 0,26$	$14,1 \pm 0,2$
Общий белок (г %)	$6,2 \pm 0,4$	$5,54 \pm 0,14$	$6,25 \pm 0,44$	$5,5 \pm 0,14$
Альбумины (%)	$55,1 \pm 1,0$	$60,1 \pm 0,50$	$55,65 \pm 1,26$	$60,5 \pm 0,21$
Глобулины (%)	$44,9 \pm 1,5$	$39,9 \pm 1,2$	$44,35 \pm 1,25$	$39,5 \pm 0,76$
Соотношение альбумин/глобулин	1,23	1,51	1,26	1,53
Эритроциты (млн)	$3,46 \pm 0,11$	$4,44 \pm 0,25$	$4,00 \pm 0,25$	$4,81 \pm 0,16$
Лейкоциты (тыс.)	$9,65 \pm 0,99$	$8,98 \pm 0,39$	$10,1 \pm 0,37$	$11,9 \pm 0,48$

в частности в их паренхиме и строме, патоморфологические изменения не наблюдались. Во II и IV группах при вскармливании крыс контрольным белком в концентрациях 18 и 36% со стороны паренхимы и стромы печени, сердца, почек и семенных желез морфологические изменения также не наблюдались.

лучавших 36% казеина, оно составляет  $1,86 \pm 0,2$  и  $2,22 \pm 0,1$  ( $P < 0,05$ ) соответственно (табл. 4).

В семенниках экспериментальных животных I группы содержание гликогена в сперматогенном эпителии достигает  $1,75 \pm 0,1$ , II группы (контроль) —  $1,35 \pm 0,1$  ( $P < 0,05$ ). У крыс, получавших 36% белкового изолята (III группа), количество гликогена составляет  $1,17 \pm 0,2$ , а 36% казеина —  $1,66 \pm 0,1$  ( $P < 0,05$ ).

Результаты морфологических исследований сохранения структурной целостности исследуемых паренхиматозных

Анализируя данные табл. 4, следует отметить, что сравнительно высокое содержание (превышает контрольные показатели как в центре, так и по периферии долек) гликогена в печени установлено в группе крыс, получавших 18% белкового изолята из субпродуктов птиц; также увеличивается по сравнению с контрольным и содержание гликогена по периферии долек печени при вскармливании крыс 36%-ным белковым изолятом.

ШИК-положительной реакции в сперматогенном эпителии группы животных, получавших 18% белкового изолята. Под влиянием 36% белкового изолята содержание гликогена отчетливо понижается по сравнению с контрольным показателем. Вместе с тем, надо отметить, что изменение содержания РНК, Фельген-положительной реакции, а также нейтральных и кислых мукополисахаридов в изученных органах как подопытных, так и кон-

Таблица 4

Гистохимическое определение содержания гликогена в печени и семенниках экспериментальных животных при вскармливании белковым изолятом из субпродуктов птиц и казеином

Концентрация белка	Группа	Число случаев	Содержание гликогена в печени (в усл. ед.)		Содержание гликогена в сперматогенном эпителии (в усл. ед.)
			Центр дольки	Периферия дольки	
			$M \pm m$	$M \pm m$	$M \pm m$
18	Опытная	5	$3,5 \pm 0,2$	$3,5 \pm 0,2$	$1,75 \pm 0,1$
	Контрольная	5	$2,65 \pm 0,2$ $P < 0,02$	$2,88 \pm 0,1$ $P < 0,05$	$1,35 \pm 0,1$ $P < 0,05$
36	Опытная	5	$1,97 \pm 0,2$	$2,67 \pm 0,1$	$1,17 \pm 0,2$
	Контрольная	5	$1,86 \pm 0,2$ $P > 0,05$	$2,22 \pm 0,1$ $P < 0,05$	$1,66 \pm 0,1$ $P < 0,05$

Таким образом, добавление в рацион животных 18% и, в меньшей степени, 36% белкового изолята из субпродуктов птиц, по-видимому, способствует большему (по сравнению с контролем) сохранению резервов гликогена, что указывает на усиление обменных процессов в этом органе.

Исследование семенных желез показало наличие более умеренной

трольных животных выявляется в соответствующем норме количестве.

Таким образом, данные биохимических, морфологических и гистохимических исследований указывают на то, что при вскармливании животных белковым изолятом из субпродуктов птиц патологические изменения не выявляются.

#### ЛИТЕРАТУРА

1. Абдушелишвили Г. В., Григорашвили Г. З., Мониава И. И., Белишвили Н. Н., Маглаперидзе И. Д. Тез. докл. Всес. совещ. «Новые источники пищевого белка и их применение», Тбилиси, 1980, 89—90.
2. Методические рекомендации по определению биологической ценности продуктов животного происхождения, ВАСХНИЛ, М., 1976.
3. Романенко А. М., Сватков В. И. Арх. патол., 9, 74—77, 1975.
4. Ронин В. С., Старобинец Г. М., Утевский М. Л. Руководство к практическим занятиям по методам клинических лабораторных исследований, «Медицина», М., 1977.
5. Руководство к лабораторным занятиям по биологической химии, «Медицина», М., 1976.
6. Reitman S., Frankell S. Amer. J. Clin. Path., 28, 56—59, 1957.



ბ. გრიგორაშვილი

საქართველოს სსრ ჯანმრთელობის დაცვის სამინისტროს გ. ნათაძის სახელობის  
სანიტარიისა და ჰიგიენის სამეცნიერო-კვლევითი ინსტიტუტი, თბილისი

რ ე ზ ი უ მ ე

თეთრ ვირთაგვებზე გამოკვლეულ იქნა ქათმის სუბპროდუქტების ცილის იზოლატის გავლენა ორგანიზმზე. ცხოველების საკვების ულუფაში ეს ცილა შედიოდა 18 და 36% რაოდენობით.

კვლევის ბიოქიმიური, მორფოლოგიური და ჰისტოქიმიური მეთოდებით შესწავლილ იქნა ორგანიზმის რეაქცია მოცემულ ცილაზე. აღმოჩნდა, რომ ქათმის სუბპროდუქტების ცილის იზოლატი არ

მოქმედებს ვირთაგვების პარენქიმული ორგანოების სტრუქტურულ მთლიანობაზე. ბიოქიმიურ გამოკვლევათა მონაცემები შეესაბამება მორფოლოგიური კვლევის შედეგებს.

ქათმის სუბპროდუქტების ცილის იზოლატით ცხოველთა კვებისას ცილის პრეპარატი საცდელ ცხოველების ორგანიზმზე ტოქსიკურად არ მოქმედებს.

## EFFECT OF PROTEIN ISOLATE FROM POULTRY SUBPRODUCTS ON ANIMAL ORGANISM

G. Z. GRIGORASHVILI

G. M. Natadze Institute of Sanitation and Hygiene of the  
Georgian Ministry of Health, Tbilisi, USSR

### Summary

In experiments with albino rats, effects of protein isolate from poultry subproducts on the organism has been studied. The rats received 18 and 36% test protein with their diet.

Biochemical, morphological and histochemical methods were used to evaluate reaction of the organism to the protein

intake. The protein isolate from poultry subproducts has no effect on structural unit of parenchymatous organs of rats. Biochemical data are in agreement with those of morphological studies.

The intake of protein isolate from poultry subproducts has no toxic effect on the organism of experimental rats.

УДК 612/616.12+517.15

БИОХИМИЯ

## АКТИВНОСТЬ АДЕНИЛАТЦИКЛАЗЫ САРКОЛЕММЫ СЕРДЦА И ЕЕ ЧУВСТВИТЕЛЬНОСТЬ К ГОРМОНАЛЬНЫМ ВОЗДЕЙСТВИЯМ И ИОНАМ ФТОРА И КАЛЬЦИЯ ПРИ ТОКСИКО-АЛЛЕРГИЧЕСКОМ МИОКАРДИТЕ

Н. В. Карсанов, Н. О. Эдишерашвили

*Республиканский научно-исследовательский центр медицинской биофизики Минздрава Грузинской ССР, Тбилиси*

Поступила в редакцию 25.01.1982

Показано, что при ТАМ\* трех- и особенно десятидневной продолжительности базальная активность АЦ сарколеммы миокардиальной клетки уменьшена. При этом чувствительность ее снижена как к NaF, так и к катехоламинам (адреналину и норадреналину) и не изменена к глюкагону и гистамину. Ингибирующее действие высоких концентраций  $Ca^{2+}$  усилено.

Базальная активность ФДЭ также значительно уменьшена, а высокие концентрации  $Ca^{2+}$  вместо выраженного ингибирующего влияния оказывают легкое стимулирующее действие.

Делается вывод, что при ТАМ имеет место десенситизация АЦ к катехоламинам и повышение чувствительности АЦ и ФДЭ к высоким концентрациям  $Ca^{2+}$ . Это, с одной стороны, должно приводить к ограничению адренергических влияний на миокард, а с другой — снижать цАМФ-зависимое фосфорилирование мембран и, в результате, уменьшать вхождение  $Ca^{2+}$  в миокардиальную клетку.

Ранее было показано, что в основе недостаточности сократительной функции сердца при ТАМ, наряду с поражением системы контрактильных белков [7] и развитием энергодефицитного состояния миокардиальной клетки [7], лежит нарушение транспорта кальция [8] в саркоплазматическом ретикулуле, обусловленное снижением цАМФ-зависимого фосфорилирования белков его мембран.

Было высказано [8] также предположение, что при ТАМ, по-видимому,

снижается АЦ активность не только везикул саркоплазматического ретикулула, присутствие в котором АЦ, по-видимому, можно считать доказанным [31], но и сарколеммы миокардиальной клетки. В связи с этим в задачу настоящего исследования входило изучение активности АЦ и ФДЭ сарколеммы миокардиальной клетки при ТАМ и влияния на АЦ активности катехоламинов, глюкагона, гистамина, а также ионов фтора и кальция.

### МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ

Опыты проведены на 17 крольках породы шиншилла обоего пола, массой 2,4—3,2 кг.

Изучена группа интактных животных и животных с трех- и десятидневным ТАМ, который воспроизво-

\* Принятые сокращения: ТАМ — токсико-аллергический миокардит; АЦ — аденилатциклаза; ФДЭ — фосфодиэстераза; цАМФ — циклическая аденозинмонофосфорная кислота; ГТФ — гуанозинтрифосфорная кислота.

дился по ранее использованному методу [7].

Сарколемма сердца выделялась по методу Рис и Катца [33], а базальная активность ее АЦ определялась по методу Ткачука и Балденкова [15] с использованием радиоактивного  $^{14}\text{C}$ -АТФ.

Влияние фторида на АЦ определялось путем внесения в среду инкубации 10 мМ NaF, а влияние насыщающих концентраций адреналина ( $10^{-4}\text{M}$ ), норадреналина ( $10^{-4}\text{M}$ ), глюкагона ( $10^{-6}\text{M}$ ) и гистамина ( $10^{-4}\text{M}$ ) путем преинкубации препаратов сарколеммы (5—10 мг белка/мл) с этими гормонами [15]. Удаление избыточных количеств гормонов производилось по Ткачуку, Авдонину и Балденкову [13].

Влияние  $\text{Ca}^{2+}$  на активность АЦ и ФДЭ определялось путем внесения в среду инкубации  $10^{-4}\text{M}$   $\text{CaCl}_2$ .

Активность ФДЭ определялась по методу В. А. Ткачука, В. Г. Лазаревича и С. Е. Северина [16].

## РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Базальная активность АЦ и чувствительность ее к гормонам, а также ионам фтора и кальция. Базальная активность АЦ сарколеммы при трех- и десятидневном ТАМ снижена на 42,1 и 45,5% соответственно (табл. 1). Чувствительность ее к активирующему действию NaF понижена — в норме активируется в 4,26 раза, а при ТАМ трехдневной и десятидневной продолжительности в 3,01 и 2,93 раза соответственно. Чувствительность АЦ к катехоламинам также уменьшена. В частности, преинкубация препаратов сарколеммы нормального миокарда с адреналином увеличивает активность АЦ сарколеммы в три, а норадреналина в 2,3 раза, при ТАМ же трех- и особенно десятидневной продолжительности лишь в 2,1 и 1,8 раза соответственно (табл. 1). В результате, стимулированная абсолютная активность не достигает даже половины контрольной величины.

Чувствительность АЦ к глюкагону и гистамину не изменена (табл. 1), но из-за низкой базальной активности абсолютная стимулированная активность составляет лишь половину нормальной стимулированной величины.

По активирующему влиянию на

Радиоактивность проб измерялась на жидкостно-сцинтилляционном счетчике «Дельта-300». Содержание белка определялось по методу Лоури [28]. При этом мембраны предварительно разрушались 1%-ным раствором дезоксиохлаата натрия.

Реактивы: АМФ, цАМФ, фосфокреатин, креатинкиназа и гистидин фирмы «Реанал» (ВНР), дезоксиохлаат натрия фирмы «Fluka» (Швейцария), адреналин, норадреналин и глюкагон фирмы «Serva» (ФРГ), гистамин фирмы «Sigma» (США),  $^3\text{H}$ -цАМФ и  $^{14}\text{C}$ -АТФ — В/О «Изотоп». Остальные реактивы фирмы «Союзреактив» и «Реакхим» (СССР), квалификация ос. ч. и х. ч. Лошадиная сыворотка Харьковского предприятия по производству бактериальных препаратов; стафилококковый токсин Института эпидемиологии и микробиологии АМН СССР им. М. Ф. Гамалея (серия 156—1, Lh=0,17).

нормальную АЦ NaF и исследованные гормоны располагаются в ряд:

NaF > адреналин > норадреналин > > глюкагон ≈ гистамин.

В случае ТАМ трехдневной продолжительности при достоверно меньшей чувствительности АЦ к NaF ( $P < 0,001$ ) и адреналину ( $P < 0,001$ ) этот ряд приобретает вид:

NaF > адреналин ≈ норадреналин > > глюкагон ≈ гистамин, а при ТАМ десятидневной продолжительности, несмотря на меньшую чувствительность не только к NaF и адреналину, но и к норадреналину, сохраняет вид, имеющий место при трехдневном ТАМ.

Высокие концентрации ионов кальция ( $10^{-4}\text{M}$ ) ингибируют базальную активность АЦ на 20%. В такой же степени они ингибируют ее при ТАМ трехдневной давности. При ТАМ же десятидневной продолжительности ингибирующее действие  $\text{Ca}^{2+}$  на АЦ существенно возрастает (ингибируется на 32,9%;  $P < 0,01$ ).

Внесение  $\text{Ca}^{2+}$  в инкубационную среду контрольных препаратов сарколеммы, инкубируемых с NaF, редуцирует его стимулирующее действие (активность АЦ стимулируется

Таблица 1

Базальная активность АЦ саркомера миокарда и влияние на нее ионов фтора, адреналина, норадреналина, глюкагона и гистамина

Группа	пикоМоль цАМФ на мг белка в мин										
	Базальная	С т и м у л и р о в а н н а я									
		NaF	адреналином		норадреналином		глюкагоном		гистамином		
Интактная (n = 6)	121 ± 2, 10	518 ± 13,3	[4,26 ± 0,14]	359 ± 10,3	[2,96 ± 0,11 <0,001]	283 ± 6,3	[2,33 ± 0,09 <0,001]	207 ± 33,7	[1,39 ± 0,26 <0,05]	173 ± 8,9	[1,43 ± 0,09 НД*]
W V L трех- дневный (n = 5)	71 ± 3,33 <0,001	211 ± 6,2 <0,001	[3,0 ± 0,16] <0,001	155 ± 7,8 <0,001	[2,23 ± 0,21 <0,02] <0,01	161 ± 3,3 <0,001	[2,29 ± 0,08 НД] НД	124 ± 8,2 <0,05	[1,77 ± 0,19 <0,02] НД	108 ± 4,99 <0,001	[1,38 ± 0,14 НД] НД
	десяти- дневный (n = 5)	66 ± 1,52 <0,001 НД	193 ± 4,7 <0,001 <0,05	[2,93 ± 0,12] <0,001 НД	140 ± 7,87 <0,001 НД	[2,08 ± 0,14 <0,01] <0,01 НД	121 ± 8,0 <0,001 <0,01	[1,82 ± 0,10 НД] НД <0,01	104 ± 8,45 <0,05 НД	[1,32 ± 0,31 НД] НД НД	89 ± 3,7 <0,001 <0,01

Примечание: Обработка цифрового материала и сравнения средних производилась по формулам, принятым для взаимосвязанных случаев. В квадратных скобках дана степень активации и достоверность различий ее по сравнению с активатором предыдущей графы. В группе трехдневного ТАМ сравнения проведены с интактной, а десятидневного — с интактной группой и трехдневным ТАМ (третья и четвертая строки соответственно); \*НД — недостоверно





всего на 73% ( $P < 0,001$ ), а при ТАМ полностью снимает его (табл. 2).

Базальная активность ФДЭ и чувствительность ее к высокой концен-

жается в еще большей степени ( $P < 0,001$ ) — табл. 3.

Ионы кальция ( $10^{-4}M$ ), в норме ингибирующие активность ФДЭ на

Таблица 2  
Влияние высоких концентраций ионов кальция ( $10^{-4}M$ ) на удельную активность АЦ

Группа	пикоМоль цАМФ на мг белка в 1 мин			
	базальная	Ca <sup>2+</sup>	NaF + Ca <sup>2+</sup>	
Интактная (n = 5)	120 ± 2,29	94,0 ± 2,94*	144 ± 6,04**	
ТАМ	Трехдневный (n = 5)	71 ± 3,63*	62 ± 3,89	82 ± 5,5
	Десятидневный (n = 5)	66 ± 1,52*	45 ± 4,53**	69 ± 4,8

трации ионов кальция. При трехдневном ТАМ удельная активность ФДЭ уменьшается на 45% ( $P < 0,001$ ), при десятидневном — сни-

жается на 32,5%, при ТАМ такого действия не оказывают. Активность ФДЭ, наоборот (хотя и недостоверно), повышается — при трехдневном ТАМ на 16,8%, а десятидневном — на 9,1%.

Таблица 3  
Влияние высоких концентраций ионов кальция ( $10^{-4}M$ ) на удельную активность ФДЭ

Группа	пикоМоль цАМФ на мг белка в 1 мин		
	без внесения Ca <sup>2+</sup>	после внесения Ca <sup>2+</sup>	
Интактная (n = 6)	256 ± 8,69	178 ± 7,28*	
ТАМ	Трехдневный (n = 5)	148 ± 10,4*	172 ± 5,4***
	Десятидневный (n = 4)	85 ± 5,92*	96 ± 7,04

\*  $P < 0,001$

\*\*  $P < 0,01$

\*\*\*  $P < 0,05$

## ОБСУЖДЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ

Таким образом, при ТАМ базальные активности АЦ и ФДЭ сарколеммы, как и АЦ и ФДЭ активности саркоплазматического ретикулума [8], снижены. Аналогичное снижение АЦ активности сарколеммы наблюдается при бактериальной кардиомиопатии кроликов [37], а по данным [23], в отличие от результатов [22], и при врожденной кардиомиопатии сирийских хомячков.

Ионы фтора, стабилизирующие АЦ комплекс в каталитически активиро-

ванном состоянии [12], при ТАМ активизируют его в существенно меньшей степени. Это, по-видимому, означает, что при ТАМ АЦ комплекс или в значительной степени теряет способность к конформационным перестройкам [13], или, возможно, имеет место нарушение способности регуляторного N-белка холофермента взаимодействовать с каталитической субъединицей [12, 13].

Уменьшение чувствительности АЦ комплекса к ионам фтора выражено



уже при ТАМ трехдневной продолжительности, усиливается к десятидневному сроку и, нужно думать, сохраняется и в более поздние сроки эволюции воспалительного процесса. Так, при аллергическом поражении сердца [5] уменьшение чувствительности АЦ миокарда к 10 мМ NaF наблюдается в период развития репаративных процессов\*. При бактериальной кардиомиопатии, судя по цифровым данным Томлинсон, Ли и Дала, чувствительность АЦ сарколеммы к NaF не изменена и ее стимулированная активность не достигает контрольной величины, по-видимому, лишь из-за низкой базальной активности.

При врожденной кардиомиопатии сирийских хомяков снижение чувствительности АЦ сарколеммы к NaF (5 мМ) отмечается в умеренной стадии заболевания (на 210—230 день) и достигает резкой степени в поздней (на 260—280 день) [22]. Небезынтересно, что еще не наступившее снижение чувствительности к NaF (8 мМ) на 180—210 день при этой болезни может выявиться в результате воздействия тироксином (в условиях *in vivo*) [23]. На нормального животного тироксин в аналогичных условиях действия не оказывал.

Особенно важным с точки зрения патофизиологического значения является снижение чувствительности АЦ сарколеммы к катехоламинам — адреналину и норадреналину. Аналогичное снижение чувствительности АЦ к адреналину наблюдается при аллергическом поражении сердца [5], в фазе репарации воспалительных и дистрофических процессов. При наследственной кардиомиопатии хомяков чувствительность АЦ к адреналину несколько снижена уже в ранней его стадии, а в поздней достигает степени снижения, граничащей с полным отсутствием [22]. Однако при тяжелой бактериальной кардиомиопатии к тем же 100 мкМ эпинефрина, что и в случае наших экспериментов, судя опять-таки по данным Томлинсона, Ли, и Дала [37], чувствительность АЦ не изменена.

Уменьшение чувствительности АЦ к катехоламинам при ТАМ, аллергическом поражении сердца [5] и наследственной кардиомиопатии хомяков [22], несомненно, должно снижать реактивность мышцы сердца к адренергическим (медируемым цАМФ [35]) влияниям — уменьшать силу и скорость сокращения, а также скорость расслабления мышцы сердца [34], подобно снижению адренореактивности сердца при стенозе аорты, в основе которой лежит десенситизация АЦ системы к катехоламинам, несмотря на высокую базальную ее активность [9].

В связи с этим интересно, что тироксин (активирующий АЦ через специальный рецептор [27] и повышающий содержание цАМФ в миокарде [17]) у хомяков с врожденной кардиомиопатией тахикардию не вызывает [23].

К глюкагону, также оказывающему положительное (медируемое цАМФ) инотропное действие на миокард, АЦ нормального миокарда оказалась менее чувствительной ( $P < < 0,05$ ), чем к адреналину и норадреналину\*.

К гистамину, продукту тучных клеток, тоже оказывающему положительное ино- и хронотропное действие на миокард, которое также медируется цАМФ (но не в предсердиях [24]), АЦ нормального миокарда, так же как и к глюкагону, оказалась значительно менее чувствительной ( $P < < 0,001$ ). При ТАМ как трех-, так и десятидневной продолжительности чувствительность АЦ комплекса к гистамину, играющему важную роль в развертывании ранней стадии воспалительного процесса, как вазодиллятор [3, 18], повышающий проницаемость мембран, оказалась неизменной. Это свидетельствует, что при ТАМ изменения в АЦ комплексе не

\* Это совпадает с одними данными [6, 15], но расходится с другими [30]. Поэтому правомерность такого заключения необходимо будет еще раз проверить путем исследования реакции АЦ на равную с катехоламинами более высокую дозу глюкагона, несмотря на то, что гормоны брались в насыщающих количествах [15], после преникубации с которыми излишки их отмывались, как и в работах [15, 30].

\* В более ранние сроки аллергического поражения сердца чувствительность АЦ миокарда к NaF и адреналину, к сожалению, не исследована [5].

затрагивают систему  $H_2$  рецептора [24].

Активность АЦ, ее чувствительность к гормонам и модуляторам определяется состоянием сложного АЦ комплекса, состоящего из регуляторной и каталитической субъединиц самой АЦ, ГТФ-связывающего белка (N-белка), сопрягающего рецептор с ферментом в случае соединения его с ГТФ и угнетающего его в случае отщепления N-белком (ГТФазой) конечного фосфата [12, 20, 31]. Кроме того, существуют ингибиторы и активаторы [1, 14] АЦ. Важную роль играют и фосфолипиды (белок—фосфолипидные комплексы), определяющие специфичность взаимодействия рецептора с гормонами (адреналином, глюкоагоном, тироксином [11, 26, 32]).

Данные относительно действия фторида и гормонов свидетельствуют, что при ТАМ, с одной стороны, имеет место поражение АЦ комплекса в области каталитического комплекса; с другой — уменьшение числа активно функционирующих рецепторов катехоламинов, глюкоагона и гистамина. При этом рецепторы катехоламинов в чем-то, по-видимому, изменяются и становятся менее чувствительными. Какую при этом роль играют те или другие возможные нарушения в сложной системе регулирования активности АЦ, судить пока не представляется возможным в связи с отсутствием экспериментальных данных. Однако можно, например, полагать, что изменения в чувствительности к адреналину могут быть связаны с изменениями в фосфолипидах [26, 32]. С этим же может оказаться связанным снижение и базальной активности АЦ.

АЦ характеризуется и значительной чувствительностью к ионам кальция, влияние которых опосредуется калмодулином [2, 21, 28]. При этом низкие концентрации  $Ca^{2+}$  активируют ее, а высокие угнетают.

При ТАМ чувствительность АЦ

сарколеммы к высоким ( $10^{-4}M$ ) ингибирующим концентрациям  $Ca^{2+}$  оказалась существенно повышенной. При этом ионы кальция редуцируют и активирующее действие NaF. Сочетание этого явления с активацией ФДЭ сарколеммы (хоть и менее выраженной, чем в случае саркоплазматического ретикулума [8]) при ТАМ под влиянием этих же концентраций  $Ca^{2+}$  должно вести к усиленному разрушению цАМФ. Неминуемым следствием этого, на фоне понижения активности АЦ (уменьшение образования цАМФ), должно быть значительное снижение содержания цАМФ и цАМФ-зависимого фосфорилирования белков сарколеммы, а результатом последнего — уменьшение вхождения  $Ca^{2+}$  в миокардиальную клетку извне. Полученные в Центре данные свидетельствуют, что при ТАМ содержание кальция в миокарде, а также саркоплазматическом ретикулуме и митохондриях действительно понижено.

Что касается механизма тенденции возрастания низкой базальной активности ФДЭ при ТАМ (даже сверх нормального уровня) под влиянием высоких концентраций ионов  $Ca^{2+}$  (вместо ее ингибирования), то это явление, по-видимому, как отмечалось в случае ФДЭ саркоплазматического ретикулума [8], может быть обусловлено увеличением содержания Са (калмодулин)-чувствительной формы ФДЭ.

Таким образом, совокупность приведенных данных дает основание полагать, что при ТАМ *in vivo*, наряду с десенситизацией АЦ к адренергическим влияниям, имеет место повышение чувствительности ферментов системы цАМФ—АЦ и ФДЭ к высокому внутриклеточному содержанию  $Ca^{2+}$ , что, нужно полагать, имеет защитное значение в ограждении клетки от накопления в миоплазме повреждающих количеств  $Ca^{2+}$ .

## ЛИТЕРАТУРА

1. Авдонин П. В., Свитина-Улитина И. В., Ткачук В. А. Биохимия, 47, 3, 455—463, 1982.
2. Авдонин П. В., Ткачук В. А. ДАН СССР, 238, 3, 726—729, 1978.
3. Альперн Д. Е., Липшиц Р. У. Арх. патол., 28, 4, 3—12, 1966.
4. Балденков Г. Н., Ткачук В. А. В кн.: Циклические нуклеотиды, «Наука», М., 1979, 5—19.

5. Гроздова М. Д., Григорович Ю. А., Зубовская А. М., Мирошниченко П. В., Шарлова И. Л. *Вопр. мед. химии*, **XXVI**, 3, 415—421, 1980.
6. Дорофеев Г. И., Кожемякин Л. А., Ивашкин В. Т. В кн.: Циклические нуклеотиды и адаптация организма, «Наука», Л., 1978, 38—47.
7. Карсанов Н. В., Капанадзе Р. В., Селихова Е. В., Убери Н. П. *Изв. АН ГССР, сер. биол.*, **6**, 5, 429—439, 1980.
8. Карсанов Н. В., Хугашвили Э. Г., Эдишерашвили Н. О., Узунян Р. В. *Изв. АН ГССР, сер. биол.*, **7**, 5, 468—476, 1981.
9. Мирошниченко В. П., Зубовская А. М., Григорович Ю. А., Демуров Е. А., Колосков Ю. Б. *Вопр. мед. химии*, **XXVII**, 1, 112—115, 1981.
10. Орлов Р. С., Барабанова В. В. *Усп. физиол. наук*, **9**, 2, 76—101, 1978.
11. Саатов Т. С. *Укр. биохим. журн.*, **53**, 2, 44—51, 1981.
12. Ткачук В. А. *Укр. биохим. журн.*, **53**, 2, 5—27, 1981.
13. Ткачук В. А., Авдонин П. В., Балденков Г. Н. *Биохимия*, **42**, 11, 2005—2012, 1977.
14. Ткачук В. А., Авдонин П. В., Панченко М. П. *Биохимия*, **46**, 2, 333—341, 1981.
15. Ткачук В. А., Балденков Г. Н., *Биохимия*, **43**, 6, 1097—1110, 1978.
16. Ткачук В. А., Лазаревич В. Г., Меньшиков М. Ю., Северин С. Е. *Биохимия*, **43**, 9, 1622—1629, 1978.
17. Туракулов Я. Х., Халиков С. К., Саатов Т. С., Далимова С. Н. *Биохимия*, **45**, 7, 1196—1200, 1980.
18. Чернух А. М. В кн.: Воспаление, «Медицина», М., 1979, 149—159.
19. Юдаев Н. А., Афиногенова С. А., Покровский Б. В., Протасова Т. Н. *Усп. совр. биол.*, **80**, 3(6), 351—367, 1975.
20. Cassel D., Selinger Z. *Proc. Nat. Acad. Sci. USA*, **75**, 9, 4155—4159, 1978.
21. Cheung W., Bradham S., Linch T., Lin Y., Tallant E. *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, **66**, 3, 1055—1062, 1975.
22. Dhalla N. S., Sulakhe P. V., Fedelesova M., Yates J. C. *Adv. Cardiol.*, **13**, 282—300, 1974.
23. Hegyvary G., Cheng F., Kang K., Ledvora R., Boyd E. J. *Mol. Cell. Cardiol.*, **11**, 303—310, 1979.
24. Johnson C. L., Weinstein H., Green J. P. *Biochem. Biophys. Acta*, **587**, 2, 155—168, 1979.
25. Lefkowitz R. J. *J. Mol. Cell. Cardiol.*, **7**, 4, 237—248, 1975.
26. Levey G. S. *J. Biol. Chem.*, **246**, 7405—7407, 1971.
27. Levey G. S., Epstein S. E. *J. Clin. Invest.*, **48**, 1663—1669, 1969.
28. Linch T. L., Tallant E. A., Cheung W. Y. *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, **68**, 2, 616—625, 1976.
29. Lowry O. H., Rosebrough N. J., Farr A. L., Randall R. J. *J. Biol. Chem.*, **193**, 265—275, 1951.
30. Murad F., Vaughan M. *Biochem. Pharmacol.*, **18**, 1053—1059, 1969.
31. Pfeiffer T. *FEBS Letters*, **101**, 1, 85—89, 1979.
32. Pohl S. L., Krans H. M., Kozyreff V., Birnbaumer L., Rodbel M. *J. Biol. Chem.*, **246**, 14, 4447—4454.
33. Reiss D. S., Katz A. M. *J. Mol. Cell. Cardiol.*, **11**, 1095—1107, 1970.
34. Shinebourne E., White R. *Cardiov. Res.*, **4**, 194—200, 1970.
35. Skelton C. L., Levey G. S., Epstein S. E. *Circulat. Res.*, **XXVI**, 1, 35—43, 1970.
36. Tada M., Kirchberger M. A., Jorio J. N., Katz A. M. *Circulat. Res.*, **36**, 1, 8—17, 1975.
37. Tomlinson C. W., Lee S. L., Dhalla N. S. *Circulat. Res.*, **39**, 1, 82—92, 1976.



გულის კუნთის სარკოლემის ადენილატციკლაზის აქტივობა და მისი მგრძობადობა ჰორმონების, აბრთმე ფტორისა და კალციუმის იონების მიმართ, ტოქსიკურ-ალერგიულ მიოკარდიტის დროს

ნ. ვ. კარსანოვი, ნ. გ. ედიშერაშვილი

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

რ ე ზ ი უ მ ე

ნაჩვენებია, რომ სამდღიანი და, განსაკუთრებით, ათდღიანი ტოქსიკურ-ალერგიული მიოკარდიტის დროს ადგილი აქვს მიოკარდის უჯრედის სარკოლემის ადენილატციკლაზის ბაზალური აქტივობის შემცირებას. ამასთან დაქვეითებულია მგრძობადობა, როგორც NaF-ის, ისე კატექოლამინების (ადრენალინი, ნორადრენალინი) მიმართ. მგრძობადობა გლუკაგონისა და ჰისტამინის მიმართ არ იცვლება. კალციუმის იონების მაღალი კონცენტრაციის ინჰიბიტორული გავლენა გაძლიერებულია.

ფოსფორილეთერაზის ბაზალური აქტივობა მნიშვნელოვნად არის შემცირებული. ამასთან კალციუმის იონების მაღალი კონცენტრაცია, ინჰიბიტორული მოქმედების ნაცვლად, მის სტიმულირებას იწვევს.

გამოტანილია დასკვნა, რომ ტოქსიკურ-ალერგიული მიოკარდიტის დროს ადგილი აქვს ადენილატციკლაზის დესინსტიზაციას კატექოლამინების მიმართ და ადენილატციკლაზისა და ფოსფორილეთერაზის მგრძობადობის გაზრდას კალციუმის იონების მაღალი კონცენტრაციისადმი. ეს ერთი მხრივ, უნდა იწვევდეს მიოკარდზე ადრენერგიული გავლენის შეზღუდვას, მეორე მხრივ კი — მემბრანების ციკლიურ ადენოზინმოზოფოსფორმეჯავაზე დამოკიდებული ფოსფორილირების შემცირებას — საბოლოოდ კი კალციუმის იონების შესვლის დაქვეითებას მიოკარდის უჯრედში.

## HEART SARCOLEMAL ADENYLATE CYCLASE ACTIVITY AND ITS SENSITIVITY TO HORMONES AS WELL AS TO FLUORINE AND CALCIUM IONS IN TOXI-ALLERGIC MYOCARDITIS

N. V. KARSANOV, N. G. EDISHERASHVILI

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

### S u m m a r y

It has been shown that in three- and especially in ten-day TAM the basal activity of myocardial cell sarcolemal adenylate cyclase (AC) is decreased, its sensitivity to NaF and catecholamines (adrenaline and noradrenaline) being decreased as well. Sensitivity to glucagon and histamine remains unchanged. Inhi-

bitory effect of high  $Ca^{2+}$  concentrations is enhanced.

Phosphodiesterase (DE) basal activity is also decreased significantly, and high  $Ca^{2+}$  concentrations have a stimulating effect instead of a pronounced inhibitory one.

A conclusion is made that in TAM

desensitization of adenylate cyclase system to catecholamines, as well as an increase of AC and PDE sensitivity to high  $Ca^{2+}$  concentrations occur. It should result on the one hand, in the restriction

of adrenergic effect on the myocardium, and on the other hand, in a decrease of cAMP-dependent membrane phosphorylation, eventually leading to a decrease of  $Ca^{2+}$  influx into myocardial cell.

УДК 577.391:597.82

РАДИОБИОЛОГИЯ

## ИЗМЕНЕНИЕ ТРАНСМЕМБРАННОГО ПЕРЕНОСА ИОНОВ НАТРИЯ В ОПУХОЛЕВЫХ КЛЕТКАХ В ИНТАКТНОМ СОСТОЯНИИ И В РЕЗУЛЬТАТЕ ВОЗДЕЙСТВИЯ НА НИХ ЛУЧЕЙ РЕНТГЕНА

А. В. Мцхетадзе, Д. И. Тушишвили

Онкологический научный центр МЗ ГССР, Тбилиси

Поступила в редакцию 07.02.1982

С помощью катион-селективных электродов изучалась кинетика изменений ионной среды в суспензиях малигнизированных перевивающихся культур фибробластов (штамм 7Л) и их нормальных прототипов — эмбриональных фибробластов хомяков.

Опыты показали, что в процессе малигнизации в значительной мере нарушается функционирование мембраны, в частности трансмембранный перенос ионов, и, в первую очередь, работа натрий-калиевого насоса. Лучи Рентгена в дозах 200 и 300 Р (0,052 и 0,078 Кл/кг) усиливают активный транспорт ионов натрия, а в дозе 600 Р (0,156 Кл/кг) подавляют его.

В последнее время в онкологии все заметнее выступает направление, связанное с изучением нарушений биологических закономерностей злокачественного роста. Применение физических и физико-химических методов открыло большие возможности исследования механизмов канцерогенеза не только на организменном уровне, но и в самой клетке, в частности, ее важнейшей в функциональном отношении составной части — биологической мембране.

Одним из наиболее важных и интегральных показателей функционального состояния мембраны явля-

ется трансмембранный перенос ионов, изменение которого может происходить при различных ее нарушениях, в частности, в процессе озлокачествления.

Перенос ионов натрия и калия, пожалуй, в наибольшей степени характеризует общую картину ионного обмена клетки с внешней средой. Изменения натриевой проницаемости или деятельности натрий-калиевого насоса могут привести к существенным изменениям в жизнедеятельности клетки. Подобные нарушения описаны также в процессе ее озлокачествления [8, 9].

### МЕТОДИКА И МАТЕРИАЛ

Задача данного исследования сводилась к изучению изменения транспорта ионов натрия в опухолевых клетках и их нормальных аналогах. С этой целью нами был разработан метод непрерывной регистрации изменения концентрации натрия в растворе с исследуемыми клетками с помощью ион-селективных электродов. Данная методика представляет собой модификацию ранее описанных спо-

собов непрерывной регистрации изменения натриевой концентрации в растворе, омывающем клетки исследуемого субстрата, погруженного в него [3, 4, 5]. Принципиальное ее отличие состоит в том, что имеющие место изменения концентрации ионов регистрируются только с одной стороны мембраны клетки (во внешнем растворе), поскольку в данных условиях невозможно произвести измерения

ионной концентрации внутри клетки. В отличие от полицеллюлярных мембран клеток кожи лягушки или стенок тонкого кишечника, находящихся в сложном взаимоотношении друг с другом, в данном случае имеются лишь отдельные клетки, ограниченные тонкой мембраной, поэтому данные, полученные только по результатам замеров ионной концентрации во внешнем растворе, вполне достаточны для суждения о движении того или иного иона в клетку или обратно.

В качестве объекта исследования использовались клетки малигнизированных перевивающихся культур фибробластов (штамм 7Л) и их нормальных прототипов — эмбриональных фибробластов хомяков. Опыты ставились также на асцитных клетках карцинома Эрлиха без специального контроля, так как данные этой серии сравнивались с результатами опытов,

полученных на клетках штамма 7Л с целью выявления общих закономерностей, присущих малигнизированным клеткам.

Перед опытом исследуемый материал помещался под селективный натриевый электрод в специальную камеру с раствором Рингера. Суть опыта состояла в регистрации изменения концентрации натрия в физиологическом растворе в результате обмена ионами между клетками и раствором Рингера, в который они погружались. Опыт проводился при 37°C и длился около 30 мин, после чего устанавливалось ионное равновесие. На основании полученных данных составлялась кривая изменения концентрации, по близости которой к уровню раствора Рингера или степени наклона судили о величине и скорости натриевого потока в процессе выравнивания ионного градиента.

**РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ**

Опыты показали, что помещение опухолевых клеток (7Л, карцинома Эрлиха) приводит к незначительному изменению концентрации натрия в

исследуемом растворе. Ионы натрия в ряде опытов или вообще не транспортируются через мембрану или в незначительной степени заходят

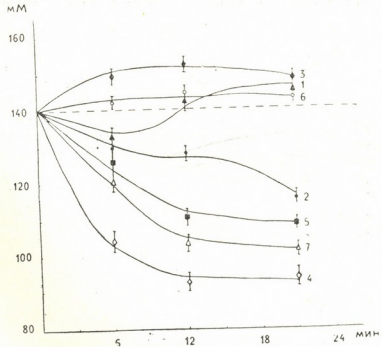


Рис. 1. Изменения во времени концентрации натрия в растворе Рингера с погруженными в него опухолевыми или нормальными клетками в интактном состоянии: 1 — нормальные клетки (фибробласты); 2 — опухолевые клетки (штамм 7Л, карцинома Эрлиха); 3 — группа опухолевых клеток с превалированием транспорта натрия из клеток в раствор Рингера, 4 — из раствора Рингера в клетки; 5 — нормальные клетки в растворе с увеличенной концентрацией натрия; 6 — влияние ГДА на выход и 7 — на вход натрия из опухолевых клеток





внутри клеток (рис. 1, кривая 2). Поскольку данные, полученные на клетках 7Л, мало отличаются от результатов, полученных на клетках карциномы Эрлиха, будем обозначать их одной кривой. Что касается контрольных клеток, то в них практически не обнаружено никаких сдвигов в процессе эксперимента (рис. 1, кривая 1).

Практическое отсутствие ионного транспорта, наблюдавшееся в описанных сериях, связано со сниженной работой натрий-калиевого насоса, «выталкивающего» ионы натрия из клеток в раствор. Естественно, далее возник вопрос о способе стимулирования работы насоса. В предыдущих наших работах [3] увеличение концентрации натрия на 20% во внешнем растворе приводило к значительному усилению деятельности натрий-калиевого насоса. Механизм этого эффекта рассмотрен в работе [10]. Исходя из этих данных, в следующих сериях опытов было решено увеличить концентрацию натрия в растворе Рингера на 20%. Планируя эти опыты, мы рассчитывали, что ионы натрия зайдут внутрь клетки по электрохимическому градиенту и окажут стимулирующее воздействие на фермент АТФазу по прин-

ципи АТФазы и, как следствие этого, усиление натриевого транспорта.

Результаты показали, что в контрольной группе вход натрия в клетки увеличился, по-видимому, в результате увеличения ионной проницаемости (рис. 1, кривая 5); в небольшом проценте случаев это имело место и в опухолевых клетках (рис. 1, кривая 4). Однако в большинстве случаев, как в клетках 7Л, так и в клетках Эрлиха, наблюдался выход натрия из клетки (рис. 1, кривая 5).

Полученный эффект скорее всего связан с усилением ферментативной активности АТФазы, следствием чего явилось усиление натрий-калиевого насоса. Однако не исключено, что при увеличении во внешнем растворе концентрации натрия произошло изменение обычного соотношения ионов натрия и калия (1:1) в процессе трансмембранного их переноса, и этим создались условия для включения электрогенного насоса [2].

Для доказательства существования активирования насоса нами была предпринята следующая серия экспериментов, в которой использовался ингибитор АТФазы гидроксилламин (ГДА) в концентрации 0,6 мМ. В ре-

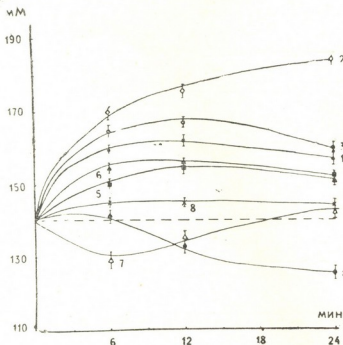


Рис. 2. Изменения во времени концентрации натрия в растворе Рингера с погруженными в него опухолевыми или нормальными клетками при облучении в различных дозах: 1 — опухолевые клетки в растворе Рингера с увеличенной концентрацией натрия; 2 — после облучения в дозе 200 P; 3 — 300 P; 4 — 600 P; 5 — опухолевые клетки в растворе Рингера с увеличенной концентрацией натрия в присутствии ГДА; 6 — в присутствии ГДА после облучения в дозе 200 P; 7 — 300 P; 8 — 600 P

ципу, описанному в работе [10]. В результате можно было ожидать: 1 — увеличение проницаемости и усиление потока ионов из внешнего раствора внутрь клетки; 2 — усиление работы натриевого насоса в результате стиму-

льностью выход натрия снизился (рис. 1, кривая 6). Вместе с тем применение того же ингибитора в опытах на контрольных клетках практически не внесло никаких изменений (рис. 1, кривые 5 и 7).



Перед нами стояла также задача проследить за влиянием лучей Рентгена на трансмембранный перенос натрия в опухолевых клетках. В связи с этим у мышей с перевитыми опухолями карциномы Эрлиха на восьмой день после перевивки участок тела с перевитой опухолью подвергался локальному облучению на рентгеновской установке РУМ-17 в диапазоне доз 200, 300 и 600 P (0,052, 0,078 и 0,156 Кл/кг). Исследование транспорта ионов натрия в клетках опухоли Эрлиха проводилось через 24 ч после облучения. Оказалось, что облучение в дозе 200 и 300 P приводит к усилению выхода натрия из клетки по сравнению с контролем (рис. 2, кривые 1, 2 и 3), причем при облучении в дозе 200 P этот эффект выражен сильнее. Доза 600 P практически подавляет транспорт натрия в клетках Эрлиха (транспорт ионов натрия был направлен, в основном, внутрь клетки — кривая 4 на рис. 2).

лучами в диапазоне доз 200, 300 и 600 P практически мало изменяет картину: транспорт натрия незначителен: кривые 5, 6, 7 и 8 проходят вблизи уровня Рингера.

Применение ГДА показало, что некоторое усиление трансмембранного переноса ионов в дозе 200 P, по-видимому, связано со стимуляцией активного транспорта, вызванной рентгеновскими лучами. Доза 300 P несколько меньше усиливает активный транспорт, а 600 P — практически подавляет.

Таким образом, помещение опухолевых клеток в раствор с повышенной концентрацией натрия приводит к усилению активного транспорта ионов натрия из клетки во внешний раствор, что не наблюдается в контроле и чем, по-видимому, бластоматозные клетки в принципе отличаются от их нормальных аналогов. Лучи Рентгена в зависимости от дозы могут изменять величину активного транспорта, а в значительных дозах и полностью подавлять его. Это обстоятельство позволяет считать ионизирующую радиацию регулятором (в зависимости от дозы) активного транспорта натрия в опухолевых клетках.

После предварительного воздействия ингибитора ГДА на клетки облученных в указанном диапазоне доз мышей оказалось, что выход натрия в значительной мере снижался (рис. 2, кривые 5, 6, 7, 8) по сравнению с контролем. Воздействие рентгеновскими

ЛИТЕРАТУРА

1. Айрапетян С. Н. Биофизика, 14, 4, 663—668, 1969г.
2. Костюк П. Г. В кн.: Общая физиология нервной системы, «Наука», Л., 1979, 182—217.
3. Мухветадзе А. В., Котария Р. З. Радиобиология, 21, 3, 446—450, 1981.
4. Мухветадзе А. В., Каландия Ю. В., Айвазшвили М. А. Мат. VIII За-

- кавказ. конф. онкологов, Тбилиси, 1979, 92—94.
5. Саная Т. В. Действие ионизирующего излучения на физиологические свойства мембран полярных клеток кожи лягушки, Автореф. канд. дисс., Тбилиси, 1973.
6. Forte J. C. Biochem. Biophys. Acta, 88, 620—629, 1973.
7. Hempling H. C. J. Gen. Physiol., 41, 3, 565—583, 1958.

ნატრიუმის იონების მიმოცვლის ტრანსმემბრანული ცვლილებები რენტგენის სხივების ზემოქმედების შედეგად

გ. მცხეთაძე, ზ. თაყაიშვილი

საქართველოს სსრ ჯანმრთელობის დაცვის სამინისტროს რესპუბლიკური ონკოლოგიის სამეცნიერო ცენტრი, თბილისი

რ ე ზ ი უ მ ე

კათიონ-სელექტიური ელექტროდების საშუალებით სუსპენზიაში შესწავლილ იქ-

ნა მალიგნიზებული ფიბრობლასტების კულტურათა შტამი 7 ლ და მისი ნორ-



მალური პროტოტიპები — ზაზუნის ემბრიონალური ფიბრობლასტების იონური არის კინეტიკური ცვლილებები.

ცდებმა გვიჩვენეს, რომ მალიგნიზაციის პროცესში საგრძობლად არის დარღვეული მემბრანის ფუნქციონირება, კერძოდ, იონების ტრანსმემბრანული მიმოცვლა და,

პირველ რიგში, ნატრიუმ-კალიუმის ტუმბოს მუშაობა. რენტგენის სხივები 200 და 300 (0,052 და 0,078 კლ/კგ) დოზით აღიწერებენ ნატრიუმის იონების აქტიურ ტრანსპორტს, ხოლო 600 (0,156 კლ/კგ) დოზით დასხივების დროს ხდება მისი დათრგუნვა.

## X-RAY INDUCED CHANGES IN Na ION TRANSMEMBRANE TRANSMISSION

A. V. MTSKHVETADZE, D. I. TU'SHISHVILI

Oncological Scientific Centre, Ministry of Health of Georgian SSR, Tbilisi

### S u m m a r y

With the help of cation-selective electrodes kinetic changes of ionic medium in suspensions of malignant crossed cultures of fibroblasts (7L and their normal prototypes) were studied in embryonal fibroblasts of hamsters.

Experiments showed that in the process of malignancy the function of trans-

membrane transmission of ions is disturbed and in particular, the work of Na-K pump.

X-rays of 200 and 300 rad (0.052 and 0.078 C/kg) increase the Na ion active transmission, while irradiation with 600 rad (0.156 C/kg)—depress it.

УДК 547.963.3

БИОФИЗИКА

## ВЛИЯНИЕ ИОНОВ МЕДИ НА ТЕПЛОВУЮ ДЕНАТУРАЦИЮ РИБОНУКЛЕАЗЫ

Л. М. Высочек

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

Поступила в редакцию 07.01.1982

Методом сканирующей микрокалориметрии изучено связывание ионов меди с бычьей панкреатической рибонуклеазой при различных рН. Обнаружено значительное изменение термодинамических параметров плавления фермента в растворах, содержащих катионы  $\text{Cu}^{2+}$ . Полученные данные позволили рассчитать значения констант связывания белка с ионами меди, которые оказались равными  $3,2 \cdot 10^2 \text{ моль}^{-1}$ ,  $2 \cdot 10^3 \text{ моль}^{-1}$  и  $4,5 \cdot 10^5 \text{ моль}^{-1}$  для рН 4,2, 5,5 и 7,4 соответственно.

Большую роль в процессах ферментативного катализа играют ионы двухвалентных металлов, которые в зависимости от концентрации могут ингибировать или активировать биохимические реакции. Конформационные изменения в структуре белка при связывании с ионами металлов должны быть в некоторых случаях весьма глубокими, для того чтобы обеспечить значительное возрастание активности, наблюдаемое для ряда ферментов [8].

Изучение стабильности структуры макромолекулы в комплексе с катионами двухвалентных металлов может помочь лучше понять характер конформационных изменений, возникающих при их ассоциации с ферментом. Удобной модельной системой для исследования лабильных участков белка является комплекс панкреатической рибонуклеазы с ионами меди. Это обусловлено двумя обстоятельствами: во-первых, хорошо изученной вторичной и третичной структурами РНКазы, а во-вторых, тем фактом, что в настоящее время хорошо известны аминокислотные остатки, взаимодействующие с  $\text{Cu}^{2+}$  [12, 13].

Для исследования конформационных изменений фермента в комплексе с  $\text{Cu}^{2+}$  был использован метод дифференциальной сканирующей микрока-

лориметрии. Измерения проводились на дифференциальном диатермическом сканирующем микрокалориметре. Чувствительность установки составляла  $0,75 \cdot 10^{-6} \text{ Вт/мм}$ . Комплексообразование РНКазы из поджелудочной железы быка (препарат фирмы SERVA пятикратно перекристаллизованный и свободный от солей) с хлоридом меди проводилось в незабуферированном растворе  $0,15\text{M}$   $\text{KCl}$  при рН 4,2, 5,5 и 7,4. Концентрация белка определялась как по сухому весу, так и спектрофотометрически в растворе  $0,15\text{M}$   $\text{KCl}$  при длине волны 278 нм. ( $\epsilon_{278}^{0,1\%} = 0,738$  [11] и составляла  $0,25 - 0,3\%$ ). Скорость сканирования по температуре равнялась  $0,33 \text{ град/мин}$ . Относительная погрешность определения теплоты плавления составляла  $\pm 5\%$ , температуры плавления —  $\pm 0,3^\circ\text{C}$ .

Как следует из графиков, представленных на рис. 1а, 2а, 3а, теплота плавления РНКазы монотонно падает, достигая минимального значения при концентрациях меди  $5 \cdot 10^{-2}\text{M}$ ,  $5 \cdot 10^{-3}\text{M}$  и  $3 \cdot 10^{-4}\text{M}$  (рН 4,2, 5,5 и 7,4 соответственно). Температура плавления также уменьшается с ростом концентрации  $\text{Cu}^{2+}$  (рис. 1б, 2б и 3б), что обусловлено дестабилизацией структуры фермента. В то же время характер зависимости теплоты плав-



ления от концентрации  $\text{CuCl}_2$  указывает на частичное, а не полное разрушение структуры макромолекулы при образовании комплекса белок — металл; в противном случае величина теплоты денатурации стремилась бы к нулю при возрастании содержания  $\text{CuCl}_2$  в растворе.

Так как концентрация комплекса совпадает с числом связанных с ферментом катионов меди, то, решая уравнение (1), совместно с уравнением (2),

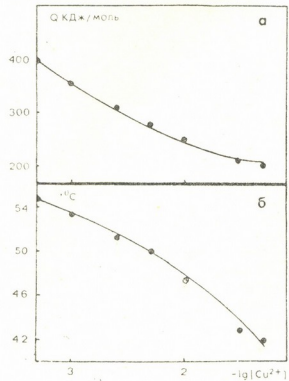


Рис. 1. Зависимость теплоты (а) и температуры плавления (б) РНКазы от  $-\lg [\text{Cu}^{2+}]$  при pH 4,2

Полученные зависимости теплот плавления от концентрации ионов меди могут служить указанием на существование сильного участка связывания на молекуле белка. Такого рода взаимодействия описывается простым уравнением равновесия:

$$K_{\text{асс}} = \frac{[\text{PCu}^{2+}]}{[\text{P}][\text{Cu}^{2+}]}, \quad (1)$$

где,  $K_{\text{асс}}$  — константа связывания, а  $[\text{PCu}^{2+}]$ ,  $[\text{P}]$ ,  $[\text{Cu}^{2+}]$  — концентрации комплекса, белка и ионов меди в растворе. Концентрацию связанных с катионами меди молекул РНКазы  $[\text{PCu}^{2+}]$  можно рассчитать, зная теплоту плавления фермента в отсутствие ионов металла ( $Q_0$ ), теплоту плавления комплекса ( $Q_1$ ) и теплоту плавления РНКазы при данной концентрации  $\text{CuCl}_2$ :

$$[\text{PCu}^{2+}] = [\text{P}]_0 \frac{Q_0 - Q}{Q_0 - Q_1}. \quad (2)$$

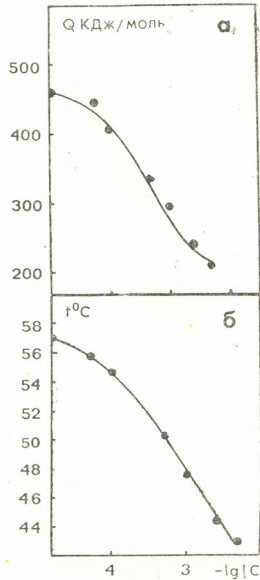


Рис. 2. Зависимость теплоты (а) и температуры плавления (б) РНКазы от  $-\lg [\text{Cu}^{2+}]$  при pH 5,5

можно получить выражение для константы связывания:

$$K_{\text{асс}} = \frac{(Q_0 - Q)(Q_0 - Q_1)/(Q - Q_1)}{[\text{Cu}^{2+}]_0(Q - Q_1) - [\text{P}]_0(Q_0 - Q)}, \quad (3)$$

где  $[\text{Cu}^{2+}]_0$  и  $[\text{P}]_0$  — полные концентрации ионов меди и белка в растворе.

Наиболее точное совпадение с экспериментальными значениями теплоты плавления  $Q$  получается при величинах  $K_{\text{асс}}$ , равных  $320 \text{ моль}^{-1}$ ,  $2 \cdot 10^3 \text{ моль}^{-1}$  и  $4,5 \cdot 10^5 \text{ моль}^{-1}$ , и значениях  $Q_1$ :  $(202 \pm 12) \text{ кДж/моль}$ ,  $(189 \pm 12) \text{ кДж/моль}$  и  $(210 \pm 12) \text{ кДж/моль}$  при

pH 4,2, 5,5 и 7,4 соответственно. Значения констант связывания, полученные нами, хорошо согласуются с величинами констант связывания сильного участка, определенными в работах других авторов [4, 5, 10].

моль-эквивалентов  $\text{CuCl}_2$  [10]. Проведенные нами эксперименты по дисперсии оптического вращения также не выявили никаких изменений  $\alpha$ -спиральности белка. Процентное содержание аминокислот в  $\alpha$ -спиралях при всех исследованных концентрациях  $\text{CuCl}_2$  и pH колебалось от 27 до 30%, что характерно для фермента в отсутствие металла [1].

Теплоту плавления вторичной структуры РНКазы ( $Q_2$ ) можно определить, используя соотношение:

$$Q_2 = \Delta h [(N_\alpha - 3p_\alpha) + (N_\beta - p_\beta)] \quad (4)$$

где  $N_\alpha$  — полное число остатков, образующих  $\alpha$ -спирали;  $p_\alpha$  — число  $\alpha$ -спиральных участков;  $N_\beta$  — число остатков, входящих в  $\beta$ -структуры;  $p_\beta$  — число  $\beta$ -структур;  $\Delta h$  — теплота плавления моля водородных связей. Член  $3p_\alpha$ , входящий в формулу (4), учитывает то, что водородные связи образуются между карбоксильным кислородом каждой пептидной группировки и водородом иминной группы третьего от него по счету аминокислотного остатка [3]. Кроме того, в формуле учтено, что остаток, находящийся в точке перегиба  $\beta$ -структуры, не участвует в образовании водородной связи. По данным рентгеноструктурного анализа [6, 9, 14]  $N_\alpha = 24$ ,  $p_\alpha = 3$ ,  $N_\beta = 31$  и  $p_\beta = 5$ . Теплота плавления моля водородных связей в воде составляет 4,2 кДж/моль [2]. Использование этих данных позволяет определить теплоту плавления вторичной структуры РНКазы  $Q_2 = 170$  кДж/моль, что близко к величине 200 кДж/моль — теплота плавления комплекса РНКазы— $\text{Cu}^{2+}$ . Полученный результат может служить еще одним доказательством отсутствия изменений во вторичной структуре фермента при ассоциации с ионами металла. Следовательно, значительное уменьшение теплоты денатурации в присутствии  $\text{CuCl}_2$  должно быть обусловлено изменениями в третичной конформации молекулы. Наиболее вероятной областью, разрушающейся в этих условиях, должен быть гидрофобный участок молекулы, так как гис-105 и гис-119 (сильные центры связывания металла [12, 13]) находятся в нативном ферменте именно в этом районе белковой глобулы [6, 9, 14].

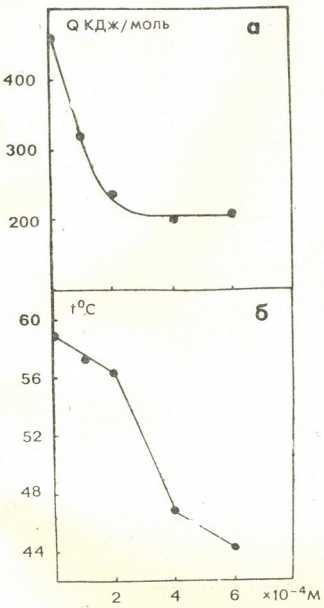


Рис. 3. Зависимость теплоты (а) и температуры плавления (б) РНКазы от молярной концентрации ионов меди при pH 7,4

Значительное изменение теплоты плавления фермента в присутствии  $\text{Cu}^{2+}$ , как уже указывалось, должно быть вызвано дестабилизацией структуры молекулы в комплексе с металлом. Этот вывод согласуется с данными Эйхорна [7], показавшего снижение активности фермента при повышении концентрации катионов. В то же время КД-эксперименты не обнаружили изменений во вторичной структуре РНКазы даже при добавлении 6,6

ЛИТЕРАТУРА

1. Блаут Е., Карвер Дж., Шехтер Е. Дисперсия и круговой дихроизм в органической химии, «Мир», М., 1970.
2. Кушнер В. П. Конформационная изменчивость и денатурация биополимеров, «Наука», М., 1977.
3. Преображенский Н. А., Евстигнеева Р. П. Химия биологически активных природных соединений, «Химия», М., 1970.
4. Breslow E., Cirotti A. W. J. Biol. Chem., 241, 5651—5660, 1966.
5. Breslow E., Cirotti A. W. J. Biol. Chem., 243, 216—221, 1968.
6. Carliole C. H., Palmer P. A., Mazumodor S., Corinsky B. A., Yeates D. G. R. J. Mol. Biol., 85, 1—18, 1974.
7. Eichhorn G. L., Clark P., Tarien E. J. Biol. Chem., 244, 937—942, 1969.
8. Eichhorn G. L. Ecological toxicology research. Effect heavy metal and organohalogen compounds, 1975, 123—142.
9. Kartha G., Bello J., Harker D. Nature, 213, 862—865, 1967.
10. Nickerson K. W., Kensal E. Van Hold. J. Biol. Chem., 248, 2022—2023, 1973.
11. Privalov P. L., Khechinashvili N. N. J. Mol. Biol., 86, 665—684, 1974.
12. Sportelli L., Viti V. Biochem. Biophys. Acta, 580, 100—107, 1979.
13. Sportelli L., Viti V. Biophys. Struct. Mech., 6, Suppl., 57, 1980.
14. Wyckoff H. W., Hardman K. D. J. Biol. Chem., 242, 3984—3988, 1967.

სპილენძის იონების გავლენა რიბონუკლეაზის სითბურ დენატურაციაზე

ლ. ვისოჩკი

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

რ ე ზ ი უ მ ე

მიკროკალორიმეტრიული მეთოდით შესწავლილ იქნა ორვალენტური იონების დაკავშირება მსხვილფეხა საქონლის პანკრეასის რიბონუკლეაზასთან სხვადასხვა pH-ის პირობებში. ნაჩვენებია, რომ თერმოდინამიკური პარამეტრები საგრძნობლად იცვლება  $CuCl_2$  შემცველ ხსნარებში. გამოთვლილია ცილის სპილენძის კათიონებ-

თან ბმის კონსტანტები:  $3,2 \cdot 10^2$  მოლი<sup>-1</sup>,  $2 \cdot 10^3$  მოლი<sup>-1</sup> და  $4,5 \cdot 10^5$  მოლი<sup>-1</sup> შესაბამისად pH-ის მნიშვნელობათათვის 4,2, 5,5 და 7,4. გამოთქმულია ვარაუდი იმის თაობაზე, თუ როგორი უნდა იყოს მაკრომოლეკულის სტრუქტურა სპილენძის იონებთან კომპლექსში.

THE INFLUENCE OF  $Cu^{2+}$  ON HEAT DENATURATION OF RIBONUCLEASE

L. M. VISOCHEK

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

Summary

The binding of  $Cu^{2+}$  cations with bovine pancreatic ribonuclease has been studied by a scanning microcalorimetry. The results show strong changes of the thermodynamic parameters of melting of RNAase in the presence of  $Cu^{2+}$ . The binding constant for pH 4.2, 5.5, 7.4 has

been calculated from the obtained data. These appeared to be equal to  $3.2 \cdot 10^2$  mol<sup>-1</sup>,  $2 \cdot 10^3$  mol<sup>-1</sup>,  $4.5 \cdot 10^5$  mol<sup>-1</sup>, respectively. An assumption about the protein structure in complex with cupric ions has been made.

УДК 576.312.231

МОЛЕКУЛЯРНАЯ БИОЛОГИЯ

## ИЗУЧЕНИЕ ФАКТОРА ЯДЕРНОГО СОКА, СТИМУЛИРУЮЩЕГО ПРОЦЕСС ТРАНСКРИПЦИИ

Д. В. Дзидзигури, М. Р. Кезели, Н. Д. Мгвделадзе,  
Г. Д. Туманишвили

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

Поступила в редакцию 07.05.1982

Методами хроматографии на колонке и электрофореза в полиакриламидном геле исследовалась природа ядерного фактора, стимулирующего синтез РНК *in vitro*. Показано, что фактор, стимулирующий процесс транскрипции, является компонентом ядерного сока и представляет собой вещество белковой природы. Хроматографией этих веществ на колонке «сефадекс G-200» установлено, что наблюдающееся стимулирующее действие ядерного экстракта обусловлено наличием в нем белков с молекулярным весом от 210000 до 800000 дальтон.

Электрофоретическое исследование отдельных типов белков ядерного экстракта, полученных при хроматографии, показало, что они не гомогенны, в каждой из них обнаружено от 2 до 4 подфракций.

Последнее десятилетие особенно интенсивно проводятся исследования по регуляции первичной активности генов *in vitro*, которые главным образом основаны на изучении факторов, регулирующих синтез РНК [4, 5, 7]. Однако, несмотря на то, что регуляция транскрипции различными факторами изучалась достаточно тщательно, этот вопрос еще далек от окончательного решения.

Ранее было показано, что ядерный экстракт (ЯЭ) печени крысы содер-

жит два компонента, различающихся по характеру действия и участвующих в регуляции синтеза РНК [2]. Вместе с тем по механизму и уровню действия обнаруженные факторы ядерного сока очень схожи. Установлено, что упомянутые факторы не проявляют ни тканевую, ни видовую специфичность.

В настоящей работе приведены результаты по изучению природы фактора ЯЭ, стимулирующего РНК полимеразную активность.

### МАТЕРИАЛ И МЕТОДИКА

Опыты проводили на белых беспородных крысах весом 150—200 г. ЯЭ получали по методу, описанному ранее [3]. Общую фракцию белка выделяли из ЯЭ с помощью обработки последнего 1%-ным раствором протаминсульфата, при насыщении которым РНК ЯЭ переходит в осадок. Полученную смесь центрифугировали при 105000 *g* в течение 1 ч. Надосадочная жидкость представляла собой фракцию белков ЯЭ без примеси нуклеиновых кислот. Очищенную таким образом общую фракцию белка ЯЭ

наносили на колонку «сефадекс G-200» (размер колонки 120×2 см).

Для вычисления молекулярного веса полученных фракций использовали уравнения, отражающие линейную зависимость логарифма молекулярного веса от объема выхода. Для сефадекса G-200 предложено уравнение  $\lg M = 6,698 - 0,987 (V_e/V_0)^*$ , с помощью которого можно вычислить

\*  $V_e$  — объем выхода,  $V_0$  — свободный объем колонки



молекулярный вес неизвестных глобулярных белков [1].

Элюцию проводили буферным раствором 0,5 М Трис—HCl pH—8,0. Влияние полученных после элюции фракций на процесс транскрипции определяли путем их инкубации в РНК полимеразной системе, аналогичной описанной ранее [2].

Отдельные хроматографические фракции белков подвергались электрофоретическому анализу в полиакриламидном геле (ПАГ) по методу Вебера и Осборна [6].

Для концентрирования хроматографических фракций проводили высаливание в течение 12 ч при 4°C, насыщая их сульфатом аммония. Полученную смесь центрифугировали при 17000 g 30 мин. Осадок растворяли

0,01 М Na-фосфатным буфером pH 7,0, содержащим 0,1%-ный β-меркаптоэтанол. Полученный раствор диализовали через диализирующую мембрану «Visking» против того же буфера. Использовали непрерывный градиент (3~10%) ПАГ. Оптимальное разрешение получалось при внесении в пробы ~ 40 мкг белка.

Электрофорез (ЭФ) проводили при постоянном токе 7 мА, в течение 6 ч. После ЭФ гель окрашивали 0,1%-ным Кумаси синим R-250 (Ferck), в 40%-ном изопропиловом спирте и 7%-ной ледяной уксусной кислоте в течение 4 ч. Избыток красителя отмывали тем же раствором.

Гели сканировали на депситометре СДС-200 (Bekman) при длине волны 550 нм.

## РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

На рис. 1 приведен хроматографический профиль белков ЯЭ печени крысы, полученный при разделении на колонке «сефадекс G-200». Из рисунка видно, что при элюции с колонки обнаружено несколько четко

выраженных пиков, соответствующих белкам ЯЭ.

С целью выявления активных фракций исследовалось влияние каждого отдельного пика на синтез РНК в системе ДНК+РНК полимеразы

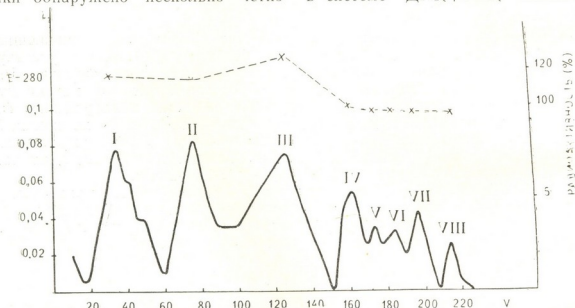


Рис. 1. Изучение белков ЯЭ печени крысы: — — хроматография белков на колонке «сефадекс G-200»; - - - влияние отдельных фракций ЯЭ на синтез РНК. Молекулярный вес полученных при хроматографии пиков: I—800000; II—246800; III—210700; IV—101200; V—59870; VI—39360; VII—30240; VIII—27250

выраженных пиков, соответствующих белкам ЯЭ. Вычисляя молекулярную массу всех полученных нами фракций с помощью вышеупомянутого уравнения, обнаружили, что ЯЭ содержит белки с высокими молекулярными массами. На рис. 1 также приведены молекулярные массы всех пи-

*E.coli*. Как видно из рисунка, добавление в инкубационную смесь I, II, III пиков, полученных при хроматографии, стимулирует включение меченого предшественника в кислото-нерастворимую фракцию. Интенсивность синтеза РНК повышается при-

близительно на 30% по сравнению с контролем.

Из рис. 1 также видно, что внесение в инкубационную смесь остальных пиков никаких существенных изменений в интенсивности синтеза РНК не вызывает. Включение меченого предшественника в РНК — на

следование общей фракции ЯЭ, при хроматографии которой были получены исследуемые пики белков ЯЭ.

На рис. 2 представлены результаты электрофоретического исследования активных фракций соответствующими денситограммами. Как видно

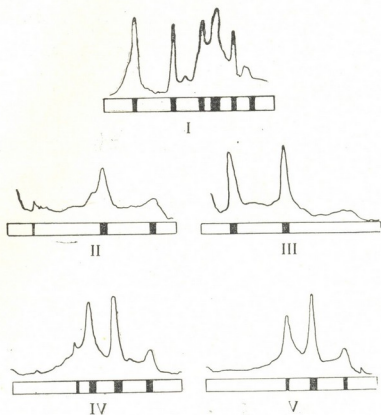


Рис. 2. Электрофоретическое изучение отдельных пиков белков ЯЭ печени крысы: I — тотальная фракция белков ЯЭ; II, III, IV и V — первый, второй и третий пик соответственно

уровне контроля. Из полученных результатов следует, что наблюдающееся ранее [2] стимулирующее действие ЯЭ печени крысы на синтез РНК обусловлено наличием в нем фракций белков с молекулярным весом 210000—800000 дальтон.

Дальнейшие эксперименты были посвящены электрофоретическому изучению отдельных хроматографических фракций ЯЭ. С этой целью проводили электрофорез в полиакриламидном геле пиков, способных проявлять стимулирующее действие на синтез РНК (I и II). Вместе с тем более тщательному изучению подвергли самый активный III пик. Этот пик разделили на две части и электрофорез проводили по отдельности. Кроме того, провели электрофоретическое ис-

следование результатов, основные фракции отнюдь не однородны и каждая из них содержит от двух до четырех подфракций. В настоящее время не известно, все ли из выявленных подфракций активны или лишь некоторые из них обладают способностью стимулировать синтез РНК.

Из полученных нами результатов следует, что ЯЭ печени крысы содержит набор белков, отличающихся друг от друга как по молекулярному весу, так и по электрофоретической подвижности. Несмотря на это, некоторые из них одинаковым образом стимулируют синтез РНК. Учитывая то обстоятельство, что в ЯЭ присутствует и ингибирующий процесс транскрипции фактор (РНК

7—9S), можно предполагать, что обнаруженные нами факторы представ-

ляют особую систему регуляции процесса транскрипции.

ЛИТЕРАТУРА

1. Детерман Г. Гель-хроматография, «Мир», М., 1970.	Biochim. Biophys. Acta, 474, 467—471, 1977.
2. Дзидзигური Д. В., Джандиერი К. М., Туманишвили Г. Д. Цитология, 24, 3, 300—306, 1982.	5. Kostraba N., Loop R., Wang T. Biochim. Biophys. Res. Comm., 79, 2, 347—351, 1977.
3. Дзидзигური Д. В., Джохадзе Д. И., Туманишвили Г. Д. Изв. АН ГССР, сер. биол., 1, 1, 92—96, 1975.	6. Weber V., Osborn M. J. Biol. Chem., 244, 16, 406—412, 1969.
4. Antonoglou O., Salakidou H., Haiclalidou E., Trakatellis A.	7. Wisnierki B. Proc. Nat. Acad. Sci. USA, 71, 4381—4385, 1974.

ტრანსკრიფციის პროცესის მასტიმულირებელი ბირთვული ფაქტორის შესწავლა

დ. ძიძიგური, მ. კეზელი, ნ. მგვდელაძე, გ. ტუმანიშვილი

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

რეზიუმე

სვეტზე ქრომატოგრაფიისა და პოლიაკრილამიდის გელში ელექტროფორეზის მეთოდების გამოყენებით გამოკვლეულ იქნა რნმ სინთეზის მასტიმულირებელი ბირთვული ფაქტორის ბუნება. ნაჩვენებია, რომ ტრანსკრიფციის პროცესის მასტიმულირებელი ბირთვული წვენი კომპონენტი ცილოვანი ბუნების ნივთიერებაა. სეფადექს G-200 სვეტზე ამ ნივთიერებათა ქრომატოგრაფიით დადგენილ იქნა, რომ

ბირთვული ექსტრაქტის აღნიშნული მასტიმულირებელი მოქმედება გაპირობებულია მასში შემავალი ცილებით, რომელთა მოლეკულური წონაა 210000—800000 დალტონი. ქრომატოგრაფიის შედეგად მიღებულ ფრაქციების ელექტროფორეზული შესწავლით აღმოჩნდა, რომ მათი შემადგენლობა არ არის ჰომოგენური და რომ თითოეული ფრაქცია ორ ან ოთხ ქვეფრაქციას შეიცავს.

STUDY OF NUCLEAR SAP FACTOR STIMULATING THE TRANSCRIPTION

D. V. DZIDZIGURI, M. R. KEZELI, N. D. MGVDLADZE, G. D. TUMANISHVILI

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

Summary

The nature of nuclear factor stimulating transcription has been studied by column chromatography and polyacrylamide electrophoresis. The crude fraction of proteins stimulating transcription was isolated from nuclear sap. By column chromatography on «G—200 Sephadex» it was established that a stimulating ef-

fect of nuclear extract is caused by proteins with molecular weight from 210000 to 800000.

Moreover, the prominent heterogeneity of main protein fractions was shown by gel electrophoresis — each of them consists of 2-4 subfractions.

УДК 547.96

КРАТКИЕ СООБЩЕНИЯ

## ВЛИЯНИЕ ИОННОЙ СИЛЫ НА СВОЙСТВА МИОЗИНА В В ПРИСУТСТВИИ САРКОПЛАЗМАТИЧЕСКОГО РЕТИКУЛУМА

М. С. Хурцилава, Е. В. Бут

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

Поступила в редакцию 02.06.1981

Известны случаи применения везикул саркоплазматического ретикулума в системах миофибрилярных белков [4, 11]. Целью данной работы было выяснение вопроса, можно ли добиться ингибирования суперпреципитации и АТФазной активности миозина В (МВ), применяя в качестве

Са<sup>++</sup>-удаляющего агента фрагменты саркоплазматического ретикулума (ФСР) вместо ЭГТА. Помимо этого, нас интересовал вопрос различаются ли суперпреципитация и АТФазная активность систем МВ+ФСР, выделенных из мышц кролика и рыбы.

### МАТЕРИАЛ И МЕТОДИКА

Выделение ФСР осуществляли по методу Икемото и др. [8], в котором для удаления примеси актомиозина фракцию мембран саркоплазматического ретикулума промывали раствором 0,5 М КСI. Показано, что выход и стабильность полученных препаратов ФСР в большей степени зависит от источника получения [5]. Мы выделяли ФСР из мышц кролика и рыбы (зеркального карпа) и существенных отличий в количестве полученных препаратов не наблюдали. Хранение осуществляли при 4°C. Полученные препараты ФСР использовали в течение трех дней, чтобы исключить изменение их свойств в результате старения. При получении ФСР пользовались водой, дважды перегнанной в кварцевом дистилляторе, и специально обработанной полиэтиленовой посудой, которая промывалась вначале 0,1 н HCl, затем большим количеством дистиллированной воды, 1 мМ ЭДТА и снова многократно дистиллированной водой [9]. Таким образом, количество кальция в препаратах ФСР сводилось к минимуму. Для увеличения емкости везикул [3] препараты ФСР перед до-

бавлением в реакционную среду предварительно инкубировали с оксалатом калия (5 мМ) в течение 20 мин [6], что не влияло на скорость гидролиза АТФ [7] и ее зависимость от моновалентных ионов [10].

Миозин В кролика получали 24-часовой экстракцией мышечного фарша раствором Губа-Штрауба с последующим двукратным переосаждением. Миозин В рыбы экстрагировали тем же раствором в течение 30 мин [2].

ЭГТА (фирмы Fluka AG, Швейцария) и АТФ (фирмы «РЕАНАЛ», Венгрия) применялись в концентрации 1 мМ.

Исследовалась зависимость ингибирования АТФазы и суперпреципитации миозина В кролика и рыбы в присутствии ФСР от молярности КСI в среде при 20°C. Суперпреципитация и АТФазная активность изучались на специально собранной установке, позволяющей измерять одновременно оба процесса. Ингибирование АТФазы и суперпреципитации в процентах вычисляли следующим образом: величине АТФазной реакции и сте-



пень суперпреципитации в отсутствие ФСР (либо ЭГТА) принимали за сто процентов, а ингибирование определяли как разность соответствующих величин, выраженных в процентах в отсутствие и в присутствии ФСР (либо ЭГТА) соответственно. Опыты проводили на 8 партиях белковых

препаратов, каждый раз полученных заново.

Применялись следующие варианты комплексования: МВ кролика+ФСР кролика, МВ кролика+ФСР рыбы, МВ рыбы+ФСР кролика, МВ рыбы+ФСР рыбы.

### РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

На рис. 1 и 2 приведены примеры зависимости ингибирования АТФазной активности миозина В\* в присутствии ФСР от молярности КСl в системах, в которых белковые препараты выделены из одного и того же

снижения АТФазной активности миозина В от молярности КСl в среде

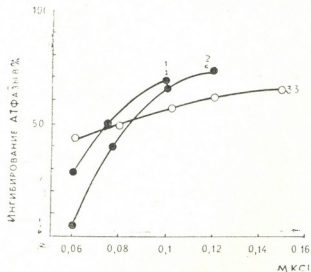


Рис. 1. Зависимость ингибирования АТФазы миозина В кролика в присутствии ФСР кролика от молярности КСl в среде и времени продолжительности реакции при pH 7,5; 1—30 с с момента начала реакции; 2—1 мин; 3—10 мин

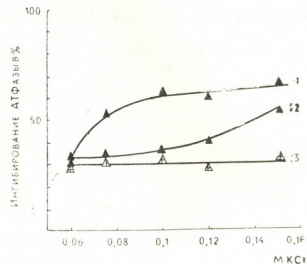


Рис. 2. Зависимость ингибирования АТФазы миозина В рыбы в присутствии ФСР рыбы от молярности КСl в среде и времени начала реакции (кривые соответствуют временам на рис. 1) при pH 7,5

источника (из мышц кролика—рис. 1 и рыбы—рис. 2). Аналогичная зависимость наблюдается в двух других вышеуказанных системах. Из рисунков видно, что уменьшение АТФазы миозина В в присутствии ФСР зависит от продолжительности реакции. При небольших интервалах времени с момента начала реакции наблюдается выраженная зависимость ингибирования АТФазы от ионной силы среды. Следует выделить систему миозин В кролика+ФСР кролика, в которой в ряде опытов зависимость

уменьшается, но на 10-й мин все еще сохраняется. Необходимо отметить,

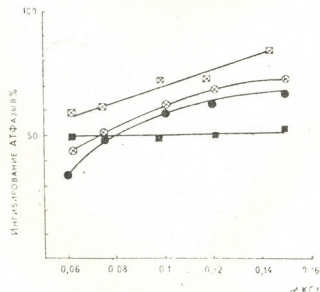


Рис. 3. Сравнение ингибирования АТФазы миозина В кролика (○, ●) и миозина В рыбы (□, ■) в присутствии ФСР кролика (●, ■) и 1 мМ ЭГТА (○, □) при pH 7,5

\* Следует уточнить, что в основе ингибирования этих процессов лежит изменение взаимодействия актина с миозином под влиянием тропонин-тропомиозинового комплекса при поглощении кальция ФСР

что в работе использовали миозин В (в концентрации 1 мг/мл) и ФСР (0,2 мг/мл). АТФаза миозина В при этом значительно выше и поэтому величинами АТФаз ФСР пренебрегли.

В кролика, вызванное добавлением 1 мМ ЭГТА или 0,2 мг/мл ФСР кролика. При pH 7,0 уменьшение суперпреципитации несколько больше, чем при pH 7,5, хотя эта разница возможно недостоверна из-за отсутствия

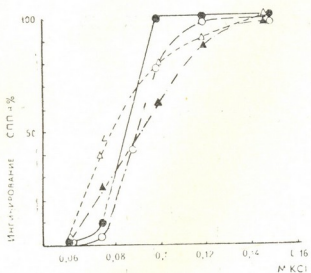


Рис. 4- Ингибирование суперпреципитации: миозина В кролика в присутствии ФСР кролика (●) и ФСР рыбы (○); миозина В рыбы в присутствии ФСР кролика (▲) и ФСР рыбы (△)

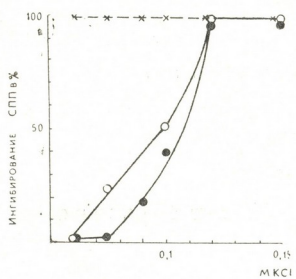


Рис. 5. Ингибирование суперпреципитации миозина В рыбы в присутствии 1 мМ ЭГТА (×) или ФСР кролика (○ — при pH 7,0 и ● — при pH 7,5)

Сравнение ингибирования АТФазной активности миозина В кролика и рыбы, вызванное добавлением в среду либо ФСР кролика, либо 1 мМ ЭГТА указывает на идентичность их влияния в случае миозина В кролика. Для миозина В рыбы общая картина не меняется, хотя присутствие ЭГТА в системе приводит к большему уменьшению АТФазы (рис. 3).

На рис. 4 приведены процентные значения ингибирования суперпреципитации четырех исследованных систем от молярности КСI в среде. Из графиков видно, что во всех четырех системах наблюдается сильная зависимость ингибирования суперпреципитации от молярности КСI в среде.

На рис. 5 дано сравнение ингибирования суперпреципитации миозина

статистической обработки результатов. Ингибирование суперпреципитации, вызванное добавлением 1 мМ ЭГТА, при всех значениях ионных сил эксперимента и обеих значениях pH составляло 100%. В присутствии оксалата калия эффект аккумуляции кальция везикулами саркоплазматического ретикулула зависит от присутствия моновалентных ионов калия или натрия. При этом в области 0—0,2 М КСI наблюдается увеличение молей кальция, аккумулялированных на мг препарата саркоплазматического ретикулула в единицу времени [10], что, несомненно, влияет на вышеприведенную зависимость свойств миозина В от молярности КСI в присутствии ФСР.

ЛИТЕРАТУРА

1. Заалишвили М. М. Физико-химические основы мышечной деятельности, «Мецниереба», Тбилиси, 1971.
2. Сент-Дьердьи А. О мышечной деятельности, Медгиз, М., 1947.
3. Veil F., Chak D., Hasselbach W., Weber H. J. Naturforsch., 32, 281—287, 1977.
4. Drabikowski W., Barylko B., Dabrowska R., Sarzata M. G. Life Sci., 9, 1225—1233, 1970.
5. Hasselbach W. Top. Curv. Chem., 78, 1—56, 1978.
6. Hasselbach W., Makinos M. Biochem. Z., 333, 518—528, 1961.
7. Yamamoto T., Tonomura I. J. Biochem., 62, 558—567, 1967.



8. Ikemoto N., Bhatnager G. M., Gergely G. M. J. Biochem. Biophys. Res. Commun., 44, 1510—1517, 1971.  
 9. Kiely B., Martonosi A. Biochim. Biophys. Acta, 172, 158—170, 1969.  
 10. Nakamura L., Konishi Biochem., 83, 1731—1735, 1978.  
 11. Weber A., Herz R., Reitz J. Gen. Phys., 46, 679—702, 1963.

იონური ძალის გავლენა მიოზინ B-ს თვისებებზე სარკოპლაზმური რეტიკულუმის თანაარსებობისას

მ. ხურცილავა, მ. ბუტი

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

რეზიუმე

შესწავლილ იქნა ბოცვრისა და თევზის ჩონჩხის კუნთიდან მიღებული სისტემების მიოზინი B+სარკოპლაზმური რეტიკულუმის ფრაგმენტები, ატფაზური აქტივობა და სუპერპრეციპიტაცია. ნაჩვენებია, რომ მიოზინ B-ს ატფაზური აქტივობა და სუპერპრეციპიტაციის

ინპიბირება დამოკიდებულია KCl-ის ლარობაზე სარკოპლაზმური რეტიკულუმის თანაარსებობისას. ბოცვრისა და თევზის კუნთებიდან მიღებულ სისტემებს შორის განსხვავებულია ნიშნული.

THE INFLUENCE OF IONIC STRENGTH ON THE PROPERTIES OF MYOSIN IN THE PRESENCE OF SARCOPLASMIC RETICULUM

M. S. KHURTSILAVA, K. V. BUT

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

Summary

The dependence of ATPase activity superprecipitation of rabbit and fish myosin B on KCL molarity has been shown in the presence of fragments of sarcoplasmic reticulum obtained from the same subjects.

An insignificant difference was found between the systems of myosin B+ sarcoplasmic reticulum obtained from rabbit and from fish skeletal muscles.

6128/195



Цена 85 коп.

Индекс 76204