

789-8  
1986

ISSN—0321—1665



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

94  
784-8

**ბიოლოგიის**  
**სერია**  
**СЕРИЯ**  
**БИОЛОГИЧЕСКАЯ**

1986 N4 · თბილისი · ტომი ·  
· ТБИЛИСИ · · ТОМ ·  
· TBILISI · · VOL.

**12**

СПИСОК РАЗДЕЛОВ БИОЛОГИИ,  
ПО КОТОРЫМ ПРИНИМАЮТСЯ СТАТЬИ

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

**ბიოლოგიის სერია**  
**СЕРИЯ БИОЛОГИЧЕСКАЯ**

ტომი 12, № 4  
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. ბეკაია

ლ. გაბუნია, ს. ღურშიშიძე, მ. ზალიშვილი, გ. თუმანიშვილი,

გ. კანდელაკი, კ. ნადარეიშვილი, გ. ნახუტრიშვილი, გ. სანაძე, ზ. 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. Бекая

Л. К. Габуня, Н. А. Джавахишвили, Н. Н. Дзидзишвили, С. В. Дурмишидзе,

М. М. Заалишвили, Г. В. Канделаки, Б. Е. Курашвили,

К. Ш. Надарейшвили, Г. Ш. Нахуцришвили, Г. А. Санадзе, Г. Д. Туманишвили,

Т. Г. Чанишвили, Ш. Ф. Чанишвили

Ответственный секретарь С. Р. Лабадзе

**EDITORIAL BOARD:**

Editor-in-Chief V. M. Okujava

Associate Editor T. N. Oniani

Editorial Secretary G. L. Bekaiia

Sh. F. Chanishvili, T. G. Chanishvili, N. A. Djavakhishvili, S. V. Durmishidze,

N. N. Dzidzishvili, L. K. Gabunia, G. V. Kandelaki,

B. E. Kurashvili, K. Sh. Nadareishvili, G. Sh. Nakhutsrishvili,

G. A. Sanadze, G. D. Tumanishvili, M. M. Zaalishvili

Executive Secretary S. R. Labadze

© Известия АН ГССР

© Серия биологическая, 1986



СОДЕРЖАНИЕ შიხსარსი CONTENTS

- T. Ш. Лабахуа, М. Г. Кокая, В. М. Окуджава. Анализ медленных отрицательных потенциалов сенсомоторной коры кошки при ритмической активности типа пик-волна 221
- თ. ლაბახუა, მ. კოკაია, ვ. ოკუჯავა. კატის სენსომოტორული ქერქის პიკ-ტალღური აქტივობის დროს აღმოცენებული უარყოფითი პოტენციალების ანალიზი
- T. Sh. Labakhua, M. G. Kokaia, V. M. Okujava. Analysis of slow negative potentials of spike-and-wave rhythmic activity of cat's sensorimotor cortex
- Д. С. Данелиа, Н. И. Бекаури, Э. В. Гонашвили. Двухкомпонентный ответ нейронов улитки на ацетилхолин 227
- ბ. დანელია, ნ. ბეჭაური, ე. გონაშვილი. ლოკოკინის ნეირონთა ორ-კომპონენტური პასუხი აცეტილქოლინზე
- D. S. Danelia, N. I. Bekauri, E. V. Gonashvili. Two-component reaction of snail neurons to acetylcholine
- Г. И. Мгалоблишвили. Исследование кожных рецептивных полей и реакций нейронов на стимуляцию задних конечностей в зоне S<sub>1</sub> при мезенцефальной гемисекции мозга кошек 232
- გ. მგალობლიშვილი. კანის რეცეპტული ველებისა და უკანა კიდურების გალიზონებზე ნეირონული რეაქციის შესწავლა S<sub>1</sub> ზონაში, კატის ტვინის მეზენცეფალური ჰემისექციის შემდეგ
- G. I. Mgaloblishvili. Study of skin receptive fields and responses of individual neurons to hind limb stimulation in area S<sub>1</sub> during mesencephalic hemisection of the cat's brain.
- Н. С. Квачантирадзе, Т. В. Васильева, Т. В. Мичурнина, Т. М. Никонова, Г. Д. Туманишвили, Н. Г. Хрущов. Антисыворотки узкой специфичности к антигенам кроветворных клеток разных грызунов 237
- ნ. კვაცანტირაძე, თ. ვასილევა, ტ. მიჩურინა, ტ. ნიკონოვა, გ. თუმანიშვილი. სხვადასხვა მღრღნელის სისხლში აღმოჩენილი უჯრედთა ანტიგენების მიმართ ვიწროდ სპეციფიკური ანტიმწარბები
- N. S. Kvachantiradze, T. V. Vasilieva, T. V. Michurina, T. M. Nikonova, G. D. Tumanishvili, N. G. Khrushchov. Narrow specificity antisera against the antigens of hemopoietic cells in rodents
- В. В. Меунаргия, Г. К. Гогичадзе, Н. М. Катанджян. Применение электронной микроскопии для идентификации Т- и В-лимфоцитов человека 242
- ვ. მეუნარგია, გ. გოგიჩაძე, ნ. კატანჯიანი. ელექტრონული მიკროსკოპიის გამოყენება ადამიანის Т-და В-ლიმფოციტების საიდენტიფიკაციოდ
- V. V. Meunargia, G. K. Gogichadze, N. M. Katanjian. Identification of human T-and B-Lymphocytes in electron microscope.
- З. А. Микеладзе. Динамика функционально обусловленных изменений содержания РНК в клетках Пуркинье при многократной вестибулярной стимуляции мозжечка крыс 247
- ზ. მიკელაძე. პურკინიის უჯრედებში რიბონუკლეინის მცირე შემცველობის ცვლილებათა დინამიკა ვირთვების ნათხემის მრავალჯერადი ვესტიბულური გალიზონების დროს
- Z. A. Mikeladze. Dynamics of functionally conditioned changes of RNA content in Purkinje's cells at multiple vestibular stimulation of the rat cerebellum.

18934

საქ. სსრ კ. პარტია  
საბ. საბ. რესპუბ.  
პრეზიდიუმი



УДК 612.014.612.825

ФИЗИОЛОГИЯ ЧЕЛОВЕКА И ЖИВОТНЫХ

## АНАЛИЗ МЕДЛЕННЫХ ОТРИЦАТЕЛЬНЫХ ПОТЕНЦИАЛОВ СЕНСОМОТОРНОЙ КОРЫ КОШКИ ПРИ РИТМИЧЕСКОЙ АКТИВНОСТИ ТИПА ПИК-ВОЛНА

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

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

Поступила в редакцию 15.10.1985

В условиях острого опыта на кошках, обездвиженных миорелаксантами, изучались внутриклеточные корреляты медленных отрицательных потенциалов (МОП) сенсомоторной коры, возникающих во время вызванной активности типа пик-волна при стимуляции вентро-пастеро-латерального (ВПЛ) ядра таламуса с частотой 3/с и самоподдерживающейся ритмической активности, развивающейся после прекращения раздражения того же ядра с частотой 8—14/с в течение 10—20 с.

Сравнение внутриклеточной активности пирамидных нейронов вызванной и самоподдерживающейся активности типа пик-волна показало, что во время вызванной ритмической активности второму МОП комплекса пик-волны соответствует ТПСР, а при самоподдерживающейся активности комплексу пик-волна соответствует пароксизмальный деполяризационный сдвиг (ПДС) мембранного потенциала (МП) корковых нейронов.

Природа отдельных компонентов вызванных потенциалов (ВП) коры все еще не выяснена. Одни исследователи [1, 2, 16, 17] МОП прямого ответа коры рассматривают как отражение гиперполяризации глубинных частей пирамидных нейронов. Другие [4, 9] считают, что МОП и отрицательные сдвиги потенциала коры, вызванные ее тетанизацией, являются выражением деполяризации клеток глии.

Исследование клеточных коррелятов сложного комплекса потенциалов типа пик-волна может внести ясность в во-

прос о генезе второго МОП комплекса пик-волны, который имеет ряд признаков, сближающих его с МОП прямого ответа коры, а также может выявить механизмы, лежащие в основе развития некоторых ЭЭГ знаков эпиплексии [6, 7, 20, 21, 24, 25].

Целью настоящей работы было изучение внутриклеточных коррелятов вызванной [20, 21] и самоподдерживающейся ритмической активности коры типа пик-волна [24, 25], клеточных механизмов, лежащих в основе развития этой активности и генеза второго МОП комплекса пик-волны.

### МЕТОДИКА

Опыты проводились на обездвиженных миорелаксантами кошках. Осуществлялись трахеотомия, обнажение правой сигмовидной извилины и пневмоторакс. Перед наложением пневмоторакса и кураризации животные переводились на искусственное дыхание. Края операционных ран и участки сдавливания фиксаторами анестезиро-

вались новокаином. Раздражались ВПЛ ядро таламуса (координаты: 9,0; 7,0; 1,0) по атласу Джаспера и Аймоне-Марсана [13] и пирамидные пути продолговатого мозга (координаты: 11,0; 1,0; 0) по атласу Рейнозо-Суареса [22] с помощью стереотаксически ориентированных биполярных (межэлектродное расстояние 0,5 мм) кон-

стантановых электродов с фабричной изоляцией. Раздражение производилось прямоугольными толчками тока длительностью до 0,5 мс.

Для отведения ВП использовался хлор-серебряный неполяризующийся электрод, который соприкасался с препаратом с помощью фитилька, смоченного физиологическим раствором, и агарового мостика. Внутриклеточная активность нейронов отводилась посредством стеклянных микроэлектродов, заполненных раствором цитрата калия (2М). Потенциалы от микро- и макроэлектродов через катодные повторители подавались на

усилители постоянного тока и фотографировались с экрана двухлучевого осциллографа. МП нервных клеток контролировался потенциометром КСП-4.

Для идентификации пирамидных нейронов использовали раздражение пирамидных путей на уровне продолговатого мозга [23].

Вызванная активность коры типа пик-волны вызывалась раздражением ВПЛ ядра таламуса с частотой 3/с, а самоподдерживающаяся активность — раздражением того же ядра с частотой 8—14/с в течение 10—20 с силой достаточной интенсивности [25].

## РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЙ

В участке задней сигмовидной извилины внутриклеточные отведения были получены от 16 пирамидных нейронов, идентифицированных по анатомному возбуждению после стимуляции медуллярных пирамид [23] во время вызванной и самоподдерживающейся ритмической активности типа пик-волна.

При раздражении специфического ядра таламуса ритмическими импульсами с частотой 3/с в коре в ответ на каждый стимул возникла реакция, состоящая, в основном, из двух отрицательных потенциалов: пикоподобного и более длительного (200—300 мс). Пикоподобному негативному потенциалу соответствовал

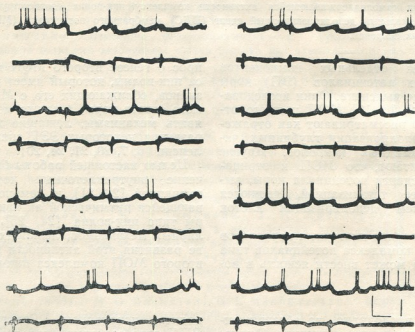


Рис. 1. Вызванная ритмическая активность сенсомоторной коры и соответствующая ей внутриклеточная реакция пирамидного нейрона. Здесь и на остальных рисунках: верхние кривые—внутриклеточная запись, нижние — суммарная активность коры; МП — 65 мВ; глубина регистрации — 1,8 мм. Параметры раздражения ВПЛ ядра таламуса: 40 В, 0,5 мс, 3/с. Калибровка: 100 мВ для микро- и 1В для макроотведения; 200 мс



ВПСП, или ВПСП со спайками, а второму МОП — ТПСП той же длительности (рис. 1).

Раздражение ВПЛ ядра таламуса с частотой 8—14/с в течение 10—20 с вызывало возникновение в сенсомоторной коре активности типа пик-волна с частотой примерно 3/с, особенностью которой являлась способность

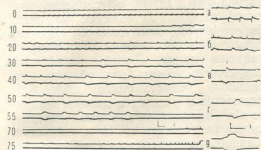


Рис. 2. Самоподдерживающаяся ритмическая активность сенсомоторной коры типа пик-волна и соответствующая ей внутриклеточная реакция пирамидного нейрона: цифры слева — время (с) от начала стимуляции ВПЛ ядра таламуса; а—д — увеличенные фрагменты; МП — 55 мВ; глубина регистрации — 2,1 мм; параметры стимуляции: 50 мВ; 0,5 мс; 10/с. Калибровка: 100 мВ для микро- и 5 мВ для макроотведения; 100 мс. На увеличенных фрагментах — 50 мВ для микро- и 2 мВ для макроотведения; 100 мс

к самоподдержанию в течение нескольких десятков секунд после выключения раздражения (рис. 2,3).

Во время интенсивной стимуляции ВПЛ ядра таламуса с частотой 8—14/с в течение 10—20 с отмечались характерные изменения в пирамидных нейронах и ВП поверхности коры. На первых секундах раздражения отмечалась реакция усиления и увеличение длительности обеих фаз ВП (рис.

## ОБСУЖДЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ

Внутриклеточная регистрация активности пирамидных нейронов коры во время вызванной ритмической активности типа пик-волна с частотой 3/с показала, что пикоподобной негативной волне соответствует ВПСП или ВПСП со спайками, а длительной негативной волне или второму МОП — ТПСП корковых нейронов, что подтверждает данные других авторов [20, 21].

2а; 3). А в нейронах в это время наблюдалось резкое ослабление ТПСП уже на второй и последующие стимулы, возникновение ВПСП, либо ВПСП со спайками в ответ на каждый стимул (рис. 3). Дальнейшая стимуляция ВПЛ ядра таламуса приводила к угнетению ВП, а в нейронах в это время отмечалась деполаризация МП (в среднем на 5—10 мВ), на фоне которой происходило уменьшение амплитуд ВПСП, спайков и учащение разрядов (рис. 2Б; 3,1—10). Впоследствии возникали ПДС МП с инакти-

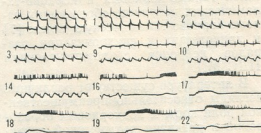


Рис. 3. Одновременная регистрация ЭКОГ и внутриклеточной реакции нейрона коры во время самоподдерживающейся ритмической активности типа пик-волна: МП — 60 мВ; глубина регистрации — 1,3 мм. Параметры раздражения ВПЛ ядра таламуса — 60 мВ, 0,5 мс; частота раздражения — 14/с. Калибровка: 65 мВ для микро- и 500 мкВ для макроотведения; 200 мс

вированными спайками на каждый стимул (рис. 3,14—16).

При развитии самоподдерживающейся ритмической активности типа пик-волна с частотой примерно 3/с каждому комплексу пик-волна в нейронах соответствовал ПДС (рис. 2,Б-Д; 3,16—22). В некоторых случаях отмечалось чередование увеличения и уменьшения ВП (рис. 3,3).

Во время самоподдерживающейся активности типа пик-волна на первых секундах раздражения ВПЛ ядра таламуса с частотой 8—14/с развивается реакция усиления, из-за вовлечения в реакцию все большего числа нейронов коры [10]. Это приводит к увеличению ВПСП нейронов, переходу от одного к множественным спайкам и уменьшению ТПСП [5], вероятно, за счет вовлечения возбуждатель-



ных интернейронов через таламокорковые аксоны и значительной активации возбуждающих синаптических входов [25].

Вслед за реакцией усиления наступает фаза угнетения ВП, вероятно, из-за деполяризации пирамидных нейронов, на фоне которой уменьшается амплитуда ВПСР; периодическое увеличение и уменьшение ВП вызваны лучшей и худшей синхронизацией активности таламических и корковых нейронов [20].

Дальнейшая стимуляция ВПЛ ядра таламуса приводит к тесной взаимосвязи таламо-корковых и корково-таламических нейронов, образующих таламо-корково-таламическую петлю [7] и приводящих к синхронизации рядов нейронов с возникновением ПДС МП.

В литературе существуют различные взгляды относительно преимущественной роли коры и подкорковых образований в развитии ритмической активности типа пик-волна. Одни считают, что кора может быть ведущим элементом при трансформации спонтанных веретён в генерализованную активность типа пик-волна [6, 7, 19]. Возникновение в коре самоподдерживающихся пик-волновых комплексов возможно и при разрушении таламуса, гипоталамуса и заднего гиппокампа [23], или в ответ на стимуляцию коры или белого вещества. Данные эпилептические явления генерируются корковыми механизмами за счет существенного вклада интернейронов, которые запускаются таламо-корковыми разрядами [25, 26].

По мнению других авторов таламус является важным элементом для развития пик-волновой активности [6, 8], особенно таламо-корковая система, ответственная за веретенообразную активность [11, 14, 15]. Таламо-корковые разряды могут привести к вовлечению высокопороговых интракортикальных возвратных путей и принимают участие в трансформации веретенообразной активности в пик-волновую активность [14, 15].

#### ЛИТЕРАТУРА

1. Лабахуа Т. Ш., Бекая Г. Л., Окуджава В. М. Нейрофизиология, 14, 115—121, 1982.

Некоторые авторы придерживаются мнения, что как таламические, так и корковые нейроны могут участвовать в генезе пик-волновой активности за счет циклического чередования возбуждения и торможения [11, 26].

Прекращение пик-волновой активности связано с продолжительной гиперполяризацией МП корковых нейронов, что может быть результатом или активации электрогенного натриевого насоса [3] или же обусловлено кортикофугальной активацией какой-либо структуры, оказывающей обратное тормозящее синаптическое влияние на нейроны коры. Такой тормозящей структурой может быть область каудального ретикулярного моста [2]. Возможно и участие в данном процессе  $Ca^{2+}$ -зависимых калиевых гиперполяризующих токов [12] из-за значительного накопления ионов  $Ca^{2+}$  в корковых нейронах вследствие их чрезмерной активации.

Сравнение внутриклеточной активности пирамидных нейронов вызванной и самоподдерживающейся активности типа пик-волна показало, что во время вызванной ритмической активности второму МОП соответствует ТПСР [20, 21], а при самоподдерживающейся активности комплексу пик-волна соответствует ПДС МП корковых нейронов.

Так как МОП прямого, первичного, ответа и, вероятно, комплекса пик-волны отражают алгебраическую сумму деполяризующих и гиперполяризующих постсинаптических потенциалов разных уровней коры [21] можно предположить, что этот потенциал возникает на поверхности коры если активность глубинных гиперполяризующих синапсов преобладает над активностью поверхностных (эффект поля) [16, 17, 21] и в случае преобладания ПДС МП в верхних слоях коры во время самоподдерживающейся пик-волновой активности (рис. 3). В случае же преобладания ПДС МП в нейронах глубоких слоев коры будет длительно возникать потенциал в виде длительной положительной волны (рис. 2).

2. Окуджава В. М. Основные нейрофизиологические механизмы эпилептической активности, «Ганатлеба», Тбилиси, 1969.



3. Окуджава В. М. В кн.: Нейрофизиологические механизмы эпилепсии, «Медицинереба», Тбилиси, 1980, 51—59.
4. Ройтбак А. И. В кн.: Современные проблемы физиологии и патологии нервной системы, «Медицина», М., 1965, 68—93.
5. Шуранова Ж. П., Гвоздикова З. М., Труш В. Д., Чурсина И. Х., Элькина Г. А. В кн.: Функциональное значение электрических процессов головного мозга. «Наука», М., 1977, 204—217.
6. Avoli M., Gloor P. *Epilepsia*, 22, 443 — 452.
7. Avoli M., Kostopoulos G. *Brain Res.*, 247, 159 — 163, 1982.
8. Avoli M., Gloor P., Kostopoulos G., Gotman J. *J. Neurophysiol.*, 50, 819 — 837, 1983.
9. Castelluchi V. F., Goldring S. *Electroencephal. Clin. Neurophysiol.*, 28, 109 — 118, 1970.
10. Dempsey E. W., Morrison R. S. *Amer. J. Physiol.*, 138, 292 — 308, 1942.
11. Gloor P., Quesney L. F., Zumatein H. *Electroencephal. Clin. Neurophysiol.*, 43, 79 — 94, 1977.
12. Hostor J. R., Prince D. A. *J. Neurophysiol.*, 43, 409 — 419, 1980.
13. Jasper H., Ajmone-Marsan C. *J. Electrical Stimulation of the brain*. Austin, 1961, 203 — 231.
14. Kostopoulos G., Gloor P., Pellegrini A., Gotman J. *Exp. Neurol.*, 73, 55 — 77, 1981.
15. Kostopoulos G., Avoli M., Gloor P. *Brain Res.*, 267, 101 — 112, 1983.
16. Krnjevic K., Randic M., Straugham D. W. *J. Physiol.*, 184, 49—75, 1966.
17. Li C. L., Chou S. W. *J. Cell. Comp. Physiol.*, 60, 1 — 16, 1962.
18. Marcus E. M., Waison C. W. *Arch. Neurol.*, 14, 601 — 610, 1966.
19. McLachan R. S., Avoli M., Gloor P. *Exp. Neurol.*, 85, 413 — 425, 1984.
20. Pollen D. A. *Electroencephal. Clin. Neurophysiol.*, 17, 398 — 404, 1964.
21. Pollen D. A., Reid K. H., Perot P. *Electroencephal. Clin. Neurophysiol.*, 17, 57 — 67, 1964.
22. Reinoso-Suarez F. *Topographischer Hirnatlas der Katze*. Darmstadt: Merck. 1961, 126.
23. S̆tephanis C., Jasper H. H. *J. Neurophysiol.*, 27, 828 — 854, 1964.
24. Steriade M. *Electroencephalogr. Clin. Neurophysiol.*, 37, 247 — 263, 1974.
25. Steriade M., Jossif G. *Electroencephal. Clin. Neurophysiol.*, 37, 633—648, 1974.
26. Steriade M., Oakson G., Diallo A. *Electroencephal. Clin. Neurophysiol.*, 41, 641 — 644, 1976.

კატის სენსომოტორული ძვრების პიკ-ტალღური აქტივობის დროს აღმოცენებული უარყოფითი პოტენციალების ანალიზი

თ. ლაბაზა, მ. კობია, ვ. თაყაიძე

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

რეზიუმე

მიორელაქსანტებით გაუმოძრაებელ კატებზე მწვავე ცდის პირობებში შესწავლილ იქნა სენსომოტორულ ქერქში თალამუსის ვენტრო-პოსტერო-ლატერალური ბირთვის 3/წმ სიხშირის გალიზიანებით გამოწვეული და, აგრეთვე, ამავე ბირთვის 8-14/წმ სიხშირისა და 10-20/წმ ხანგრძლივობის გალიზიანების შემდეგ განვითარებული თვითშენარჩუნების უნარის მქონე რიტმული აქტივობისას აღმოცენებული ნელი უარყოფითი პოტენციალების უკრედული კორელატები.

გამოწვეული და თვითშენარჩუნების უნარის მქონე პიკ-ტალღური ტიპის რიტმული აქტივობის დროს პირამიდული ნეირონების პოსტსინაფსური რეაქციების შედარებამ დაგვანახა, რომ პირველ შემთხვევაში პიკ-ტალღის კომპლექსის ნელ უარყოფით პოტენციალს პირამიდული ნეირონების შემკავებელი პოსტსინაფსური პოტენციალი შეესაბამება, ხოლო მეორე შემთხვევაში პიკ-ტალღის კომპლექსს შეესაბამება ქერქული ნეირონების მემბრანული პოტენციალის პაროქსიზმული დეპოლარიზაციის ძვრა.

ANALYSIS OF SLOW NEGATIVE POTENTIALS OF SPIKE-AND-WAVE  
RHYTHMIC ACTIVITY OF CAT'S SENSORIMOTOR CORTEX



T. Sh. LABAKHUA, M. G. KOKAIA, V. M. OKUJAVA

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

S u m m a r y

In acute experiments on cats, immobilized by myorelaxants intracellular correlates of slow negative potentials (SNP) of the sensorimotor cortex during evoked (3/sec repetitive stimulation of the ventro-postero-lateral nucleus of thalamus) and selfsustained (after 8—14/sec repetitive stimulation of the same nucleus during

10 — 20 sec) spike-and-wave rhythmic activity were studied.

The comparison of intracellular postsynaptic reactions of the cortical pyramidal neurons during the evoked and selfsustained spike-and-wave rhythmic activity of the cortex revealed that in the first case to the SNP corresponds IPSP while in the second case—PDS of MP.,

УДК 612.815:577.17

ФИЗИОЛОГИЯ ЧЕЛОВЕКА И ЖИВОТНЫХ

## ДВУХКОМПОНЕНТНЫЙ ОТВЕТ НЕЙРОНОВ УЛИТКИ НА АЦЕТИЛХОЛИН

Д. С. Данелиа, Н. И. Бекаури, Э. В. Гонашвили

Институт кибернетики АН ГССР, Тбилиси

Исследовалось влияние ацетилхолина (АХ), холиномиметиков тетраметиламмония (ТМА), карбахолина, метилфурметида (МФМ), холинолитиков d-тубокурарина (d-ТК) и бензогексония на нейроны подглоточного комплекса ганглиев улитки.

Показано, что в дорсо-латеральной части правого парietального ганглия находятся нейроны, отвечающие как на перфузию, так и ионофоретическое подведение АХ двухфазной реакцией — начальной деполяризацией и последующей более продолжительной гиперполяризацией. Деполяризационная фаза обусловлена активацией никотиновых холинорецепторов (N-XP), гиперполяризационная — активацией мускариновых холинорецепторов (M-XP). N-XP являются высокопороговыми, но более эффективными по сравнению с M-XP.

В ранних работах, проведенных на морском брюхономом моллюске аплизии, было показано, что в одном и том же синапсе могут генерироваться как ВПСП, так и ТПСП. Было предположено, что оба синаптических действия являются результатом высвобождения одного медиатора, ацетилхолина (АХ), активирующего два различных постсинаптических рецептора,

а превращение ВПСП в ТПСП обусловлено десенситизацией возбуждающего рецептора и сенситизацией тормозного [6].

Целью настоящей работы было обнаружение нейронов с двухкомпонентной реакцией на АХ у улитки и определение некоторых фармакологических характеристик холинорецепторов, ответственных за эту реакцию.

### МЕТОДИКА

Опыты проводились на изолированном подглоточном комплексе ганглиев бодрствующих улиток *Helix lucorum*. Применялась стандартная методика внутриклеточной регистрации нейронной активности. Стеклянные микроэлектроды, заполненные 3М КСl или 0,6 М  $K_2SO_4$ , вводились в исследуемую клетку под визуальным контролем. АХ перфузировался в омывающий ганглий раствор, либо наносился ионофоретически непосредственно на соматическую мембрану исследуемого

нейрона. Во втором случае применялись микроэлектроды, заполненные 0,1М водным раствором АХ. Препарат омывался раствором Рингера — 80 мМ NaCl; 4 мМ KCl; 7 мМ  $CaCl_2$ ; 5 мМ  $MgCl_2$ ; трис-буфер до pH 7,5. На этом растворе приготавливались и используемые в опытах вещества ацетилхолинхлорид, тетраметиламмонийхлорид, метилфурметидиодид, карбахолин, d-тубокурарин, бензогексоний.

### РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

Проведенные опыты показали, что в дорсо-латеральной части правого парietального ганглия имеются ней-

роны, отвечающие на перфузию АХ двухкомпонентной реакцией. Это клетки группы D по номенклатуре Д. А.



Сахарова [2]. Потенциал покоя этих нейронов варьировал в пределах (-35) — (-50) мВ, потенциал действия имел значительный овершут, до 60 мВ, и характерную задержку на нисходящей фазе.

В большинстве случаев реакция нейронов на нанесение АХ зависела от концентрации перфузируемого раствора — более низкие концентрации вызывали только гиперполяризацию (рис. 1А), а при более высоких концентрациях гиперполяризации предшествовал деполяризационный компонент ответа (рис. 1Б). Попытка фармакологического разделения двухфазного ответа привела к следующим результатам. Никотиновый холиномиметик вызывал деполяризацию (рис. 1В, Г), тогда как карбахолин, мускарино-

блокировали только деполяризационную фазу ответа. Эти результаты согласуются с данными, полученными на нейронах аплии [5].

Возможны два объяснения полученных результатов. На нейронах группы D сосуществуют как М-ХР, так и N-ХР. Активация М-ХР гиперполяризует, а активация N-ХР деполяризует клетку. При этом М-ХР, по сравнению с N-ХР, является низкопороговым, но менее эффективным, так как при высоких концентрациях АХ гиперполяризация маскируется деполяризацией. Альтернативно, двухфазный ответ на перфузию АХ может быть результатом возбуждения других нейронов, пресинаптических по отношению к регистрируемой клетке.

Для выяснения этого вопроса была предпринята ионофоретическая аппликация АХ непосредственно на соматическую мембрану нейрона.

Большинство исследованных нейронов группы D на ионофоретическое подведение АХ реагировали двухфазным ответом — начальной кратковременной деполяризацией, за которой следовала более продолжительная волна гиперполяризации. В большинстве случаев при уменьшении силы тока двухфазный ответ превращался в чисто гиперполяризационный (рис. 2Б — тот же нейрон, что и на рис. 1). Для выявления этого феномена не имела значения очередность подаваемых стимулов, т. е. предшествовали ли слабый стимул сильно или наоборот. Рис. 2В и Г иллюстрирует ответы одного и того же нейрона при разных уровнях мембранного потенциала — на второй кривой мембрана деполяризована на 10 мВ. На кривой 2В сила тока увеличивается от 120 до 180 нА, тогда как на кривой 2Г падает от 130 до 45 нА. На этой кривой видно, что при постепенном уменьшении интенсивности стимула крутизна начальной части переднего фронта гиперполяризационной волны увеличивается, что, по-видимому, должно указывать на постепенное уменьшение деполяризационного электрогенеза.

Для более подробного анализа электрографических характеристик двухфазного ответа кривые, представленные на рис. 2В и Г, были наложены друг на друга (рис. 3А и Б). Оказалось, что с увеличением интенсивности стимула амплитуда и продолжи-

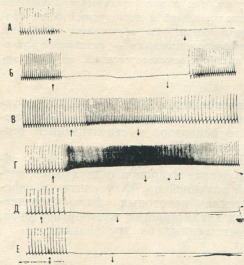


Рис. 1. Влияние перфузии АХ (А, Б), ТМА (В, Г) и карбахолина (Д, Е) на активность нейрона группы D. Концентрации веществ: А —  $10^{-5}$  М, Б —  $10^{-4}$  М, В —  $10^{-4}$  М, Г —  $10^{-3}$  М, Д —  $10^{-4}$  М, Е —  $10^{-3}$  М. Стрелка вверх — нанесение вещества, стрелка вниз — отмывание. Калибровка: 20 мВ, 10 с

вый холиномиметик, вызывал гиперполяризацию указанных нейронов (рис. 1Д, Е). При этом знак ответа не зависел от концентрации холиномиметиков. В опытах был использован также МФМ, однако его холиномиметический эффект оказался значительно слабее эффекта карбахолина, d-ТК и бензогексоний в концентрациях  $10^{-4}$  М



тельность деполяризационного компонента увеличивались, а время достижения максимума линейно сокращалось, тогда как время наступления максимума гиперполяризационного компонента, наоборот, увеличивалось. Это увеличение наблюдалось и при малых интенсивностях стимулов,

сто на идентифицированном нейроне L7 аплизии [6].

Таким образом, проведенные исследования показали, что нейроны группы D улитки отвечают на перфузию или ионофоретическое подведение АХ двухфазной реакцией. Деполяризационная фаза обусловлена активацией N-XP, а гиперполяризационная — ак-

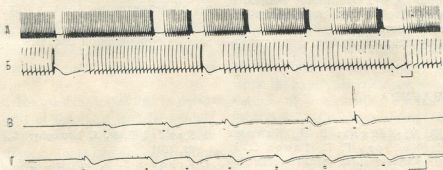


Рис. 2. Ответы трех нейронов (А, Б, В, Г) группы D на ионофоретическую аппликацию АХ. Б— тот же нейрон, что и на рис. 1. Сила тока меняется слева направо. А—10, 8, 12, 18, 18, 40, 40 нА; Б—50, 20, 15, 12 нА; В—120, 130, 140, 150, 180 нА; Г—130, 100, 90, 80, 70, 60, 45 нА; Калибровка: 20 мВ, 10 с

вызывающих только гиперполяризацию нейрона (рис. 3Б).

Вместе с тем оказалось, что двухфазная реакция на АХ несколько различна у разных нейронов. В некоторых случаях не удалось обнаружить разницу в пороге между деполяризационным и гиперполяризационным компонентами ответа. Нейрон, представленный на рис. 2А, отвечал на аппликацию АХ при силе тока 10 нА двухфазной реакцией, а интенсивность стимула в 8 нА оказалась подпороговой для обоих компонентов ответа. Кроме того, одни нейроны на увеличение АХ-толчков реагировали увеличением продолжительности обоих компонентов ответа (рис. 2А, Б), тогда как другие — увеличением продолжительности только деполяризационной фазы (рис. 2В, Г). Возможно, ионные механизмы, лежащие в основе двухфазного ответа на нанесение АХ, не одинаковы у всех нейронов.

Полученные результаты показывают, что двухкомпонентный ответ в исследованной группе нейронов не является результатом десенситизации возбуждающего рецептора и сенситизации тормозного, как это имеет ме-

тивацией М-XP, при этом N-XP является высокопороговым по сравнению с М-XP.

Двухкомпонентные реакции в ответ на нанесение АХ были также описаны на идентифицированных нейронах катушки [1] и аплизии [5, 6]. На нейронах аплизии кроме уже указан-



Рис. 3. Суперпозиция ответов, представленных на рис. 2 В (А) и 2Г (Б). Калибровка: 10 мВ, 5 с

ного деполяризационно-гиперполяризационного ответа наблюдался также двухкомпонентный ответ, состоящий из ранней, быстрой, гиперполяриза-

ции, на которую накладывалась медленно нарастающая продолжительная гиперполяризация [5]. На этих же клетках были зарегистрированы аналогичные постсинаптические потенциалы. Было показано, что ответственные за эти ответы холинорецепторы управляют проницаемостью мембраны для разных ионов: один — для натрия, другой — для калия, третий — для хлора [3, 4]. Возникает вопрос о функциональной роли этих разнорецепторных систем.

Если чувствительную к фармаколо-

гическим агентам соматическую мембрану нейрона рассматривать как модель постсинаптической мембраны, то двойственно действующие синаптические образования должны обладать функциональным преимуществом по сравнению с синапсами, генерирующими классические ВПСИ или ТПСИ, поскольку такие образования могут дискриминировать временные паттерны афферентного входа, а эта способность является существенным свойством любой нервной системы.

## ЛИТЕРАТУРА

1. Гер Б. А., Зеймаль Э. В., Качман А. Н., Кобзарь Г. Т., Гапон С. А. В кн.: Сравнительная фармакология синаптических рецепторов, «Наука», Л., 1977, 200—210.
2. Сахаров Д. А. Генеалогия нейронов, «Наука», М., 1974.
3. Blankenship J. E., Wachtel H., Kandel E. R. J. Neurophysiol., 34, 76—92, 1971.
4. Kehoe J. S. J. Physiol., 225, 85—114, 1972.
5. Kehoe J. S. J. Physiol., 225, 115—146, 1972.
6. Wachtel H., Kandel E. R. J. Neurophysiol., 34, 56—68, 1971.

## ლოკოკინის ნეირონთა ორკომპონენტიანი პასუხი აცეტილქოლინზე

ბ. დანელია, ნ. ზედაძე, ი. გონაშვილი

საქართველოს სსრ მეცნიერებათა აკადემიის კიბერნეტიკის ინსტიტუტი, თბილისი

რ ე ზ ი მ ე

შესწავლილ იქნა აცეტილქოლინის, ქოლინომიმეტიკურ (ტეტრამეტილამონიუმში, კარბაქოლინი, მეტილფურმეტიდი) და ქოლინოლიტიკურ ( $\alpha$ -ტუბოკურარინი, ბენზოჰექსონიუმი) ნეირონებთან გავლენა ლოკოკინის კვანძების ხახისქვედა კომპლექსის ნეირონებზე.

მარჯვენა თხემის კვანძის დორსალ-ატერალურ ნაწილში ისეთი ნეირონები აღმოჩნდა, რომლებიც აცეტილქოლინის როგორც პერფუზიით, ისე იონოფორეზულად შეყვანის საპასუხოდ ორფაზიან

რეაქციას იძლევიან — პირველი ფაზა დეპოლარიზაციულია, ხოლო მეორე, უფრო ხანგრძლივი, ჰიპერპოლარიზაციული ფაზაა. დეპოლარიზაციული ფაზა აღმოცენდება ნიკოტინური ქოლინორეცეპტორების აქტივაციის შედეგად, ჰიპერპოლარიზაციული ფაზა — მუსკარინული ქოლინორეცეპტორების აქტივაციით. ნიკოტინური რეცეპტორების აქტივაციის ზღურბლი მაღალია, მაგრამ ნეირონის მემბრანული პოტენციალის წარმოშობაზე მათი ზეგავლენა უფრო ეფექტურია, ვიდრე მუსკარინული რეცეპტორებისა.

# TWO-COMPONENT REACTION OF SNAIL NEURONS TO ACETYLCHOLINE



D. S. DANELIA, N. I. BEKAURI, E. V. GONASHVILI

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

## S u m m a r y

The effect of acetylcholine, cholinomimetics tetramethylammonium, carbacholine, methylfurmetide, cholinolytics d-tubocurarine, benzohexonium on the neurons of snail suboesophageal ganglia has been studied.

It has been demonstrated that in dorsolateral part of the right parietal ganglia there are neurons responding to both perfusion and iontophoretic application

of acetylcholine with biphasic reaction—an initial short depolarization is followed by prolonged hyperpolarization. The depolarizing phase is specified by activation of nicotinic cholinoreceptors (N-Chr), while the hyperpolarizing phase—by activation of muscarinic cholinoreceptors (M-Chr). N-Chr has higher threshold, but is more effective than M-Chr.

УДК 612.844.1:612.13 — 06

ФИЗИОЛОГИЯ ЧЕЛОВЕКА И ЖИВОТНЫХ

## ИССЛЕДОВАНИЕ КОЖНЫХ РЕЦЕПТИВНЫХ ПОЛЕЙ И РЕАКЦИЙ НЕЙРОНОВ НА СТИМУЛЯЦИЮ ЗАДНИХ КОНЕЧНОСТЕЙ В ЗОНЕ $S_1$ ПРИ МЕЗЕНЦЕФАЛЬНОЙ ГЕМИСЕКЦИИ МОЗГА КОШЕК

Г. И. Мгалоблишвили

*Тбилисский государственный медицинский институт*

Исследованы компенсаторные преобразования зоны  $S_1$  неокортекса в различные сроки (2 ч и 6 месяцев) после гемисекции мозга на уровне четверохолмия. Установлено, что через 2 ч после гемисекции в обоих полушариях регистрируются клетки с контралатеральными рецептивными полями (РП). Через 6 месяцев на неоперированной стороне регистрируются клетки с четко выраженными РП, расположенными как на контра-, так и на ипсилатеральной стороне. Эти факты свидетельствуют о многоканальном проведении сенсорной информации на уровне среднего мозга. Предполагается, что после гемисекции неоперированная сторона берет на себя функции травмированной, что подтверждается ростом числа реактивных нейронов.

Все большее значение в современной физиологии и медицине приобретает исследование нейронных перестроек после частичного повреждения ЦНС. Особое значение при этом придается вопросам компенсации различных соматических нарушений [7]. Указанное обусловлено как важностью функции осознания для ориентации в окружающей среде, так и большой частотой встречаемости различного рода парезов в клинической практике. Наиболее часто в клинике встречаются нарушения с преобладающим повреждением одной из сторон мозга. Как правило, наиболее тяже-

лые случаи связаны с повреждением структур, лежащих у основания черепа, в том числе среднего мозга [3]. Для раскрытия основных закономерностей процессов компенсаторного характера необходимо исследовать нейронные перестройки как в ближайшие часы после повреждения, так и на более поздних сроках восстановления.

В задачу нашего исследования вошло изучение перестроек функциональных характеристик нейронов зоны  $S_1$  неокортекса в различные сроки после гемисекции мозга на уровне четверохолмия.

### МЕТОДИКА

Исследование проводилось в условиях острого опыта на 18 половозрелых кошках. Были поставлены 2 серии экспериментов: одна серия (7 опытов) на интактных животных, вторая — в различные сроки после горизонтальной гемисекции мозга между верхним и нижним буграми четверохолмия (11 опытов). Все оперативные вмешательства проводились под хлоралозно-небуталовым наркозом (соответственно 50 и 10 мг/кг). Исследо-

вания нейронных реакций проводили после обездвиживания животного 3,0 мл 2%-ного раствора диплацина (внутрибрюшинно). Исследовались нейроны зоны  $S_1$  неокортекса (средняя часть s. cruciatus). Отведение и регистрацию нейронной активности осуществляли путем внеклеточного отведения, с использованием записи на фото- и магнитной пленке и выделением нейронных ответов при помощи построения постстимульных гисто-



грамм [4]. При исследовании реакций нейронов на раздражение симметричных участков конечностей в качестве стимула применялось электрическое раздражение кожи задних конечностей (сила тока 2,5 мА, длительность стимула — 10 мс). Определение рецептивных полей кожи (или поверхности тела, раздражение которой

приводит к возбуждению регистрируемого нейрона) проводили по методу, описанному в работе Силакова и Дыбовского [5], учитывая при анализе только те клетки, которые реагировали на такие виды механической стимуляции, как прикосновение к волосам и коже.

## РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

Всего в процессе исследования была проанализирована вызванная активность 143 клеток, обладающих устойчивой фоновой активностью. В первой серии опытов при исследовании интактного мозга было зарегистрировано 50 нейронов. Более половины исследованных клеток имели локализованные РП, расположенные на разных участках поверхности тела (рис. 1). Обычно ответы регистрировались из дорсальной или волярной поверхности стопы, реже — голени, подушки лап или других кожных областей. РП большинства исследованных клеток имели округлую форму и хорошо очерченные границы и располагались преимущественно на контралатеральной стороне тела, в области задней лапы. Ответы на стимулы, подаваемые с ипсилатеральной стороны тела, были зарегистрированы в единичных случаях.

При электрическом раздражении кожи задних конечностей отмечалась сходная закономерность распределения нейронных реакций в ответ на подачу стимулов с ипсилатеральной и контралатеральной сторон тела. Все данные по реакциям клеток на стимуляцию задних конечностей и имеющихся РП суммированы в таблице.

Оперированные животные разбивались на две группы. У 8 животных (в острых опытах) соматосенсорная кора подвергалась исследованию через 2 ч после мезенцефальной гемисекции. На оперированной стороне РП характеризовались обширными размерами и отсутствием четких границ. Они были найдены у 35% исследованных клеток. Большая часть РП располагалась на контралатеральной поверхности тела, значительно меньшая — на ипсилатеральной стороне. Стимуляция задних конечностей у

2. Серия биологическая, т. 12, № 4

данной группы животных не оказывала влияния на активность нейронов.

При исследовании нейронной активности полушария неоперированной стороны мозга РП были найдены у 85% клеток. Большая часть из них (53%), как и в первом случае, находилась на контралатеральной стороне тела, 32% — на ипсилатеральной. У данной группы животных отсутствовала билатеральная чувствительность клеток неокортекса — как на оперированной, так и на неоперированной сторонах мозга. При стимуляции задних конечностей среди нейронов, зарегистрированных в неокортексе на неоперированной стороне мозга, количество реагирующих на стимуляцию контралатеральной конечности уменьшилось с 31% до 26%, при этом увеличился процент клеток, отвечающих на стимуляцию ипсилатеральной конечности. Количество нейронов, проявляющих билатеральную чувствительность, уменьшилось почти в три раза.

В следующую группу вошли хронические животные, прожившие 5—6 месяцев после мезенцефальной гемисекции. На 3-х кошках были получены предварительные результаты по компенсаторной перестройке нейронных реакций в зоне  $S_1$ . При исследовании рецептивных полей, в отличие от предыдущей группы, в коре на оперированной стороне мозга была выявлена полная ареактивность клеток зоны  $S_1$ : стимулы, подаваемые с контралатеральной и ипсилатеральной сторон, не имели четких РП (рис. 1А). Относительно клеток, отвечающих на стимуляцию задних конечностей, следует отметить, что нейроны были ареактивными к стимуляции ипсилатеральной конечности, хотя в 14% случаев они реагировали на стимуляцию контралатеральной конечности.

Бож. боб. ж. боб. боб.  
Боб. боб. боб. боб.



Распределение клеток зоны  $S_1$  в зависимости от стороны повреждения и сроков после операции

Вид нейронного ответа	Норма		После операции						
			через 2 ч			через 6 месяцев			
			стимуляция задних лап		рецептивное поле	стимуляция задних лап		рецептивное поле	
рецептивные поля	стимуляция задних лап	оперированная сторона	неоперированная сторона	оперированная сторона	неоперированная сторона	оперированная сторона	неоперированная сторона		
Билатеральный	21%	31%	—	12%	—	—	—	53	—
Ипсилатеральный	3%	7%	—	12%	3%	32%	—	—	—
Контралатеральный	30%	31%	—	26%	32%	53%	—	47%	14%
Всего	54%	69%	—	50%	35%	85%	—	100%	14%

Иные результаты были получены при исследовании неокортекса на неоперированной стороне мозга. Все ис-

ходные группы животных не были выявлены клетки, имеющие РП только на ипсилатеральной стороне тела.

Подводя итог проведенным экспериментам, можно предположить, что нейроны, расположенные в первой соматосенсорной области неокортекса на оперированной стороне, в основном перестают реагировать на соматические стимулы. В то же время неоперированная сторона берет на себя функции поврежденной, что четко выявляется в увеличении общего числа реагирующих клеток в два раза по сравнению с нормой. Указанные факты могут свидетельствовать о способности ЦНС эффективно регулировать участие нейронов зоны  $S_1$  в обработке поступающей соматической информации. Такое перераспределение функций возможно, с одной стороны, благодаря изменению свойств самих нейронов, с другой — благодаря пластичности проводящих путей [8]. Кроме того, способность к многоканальному проведению и высокие адаптивные возможности кожного анализатора, выявленные в данном исследовании, при повреждении системы проведения соматической афферентации на уровне межчетверохолмия, позволяют думать о возможном вовлечении в компенсаторный процесс ассоциативных систем среднего мозга (ретикулярной формации) и вышележащих структур [1].

Что касается результатов, полученных на животных, взятых в опыт через несколько часов после операции,

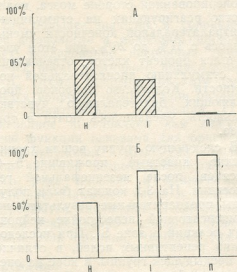


Рис. 1. Изменение количества клеток с рецептивными полями на оперированной (А) и неоперированной (Б) сторонах мозга при его мезенцефальной гемисекции: Н — контрольные животные, I — острые, II — хронические; по оси ординат — количество нейронов в %

следованные клетки неоперированной стороны имели РП (рис. 1Б), которые находились на контралатеральной или обеих сторонах тела. У дан-



თო მკიო პრედპოლოჟი, ცხო პოაქვლიე კლეტოქ ს კონტრალატერალნიჟი რპ კაკ ვ ნეოპერივანო, თაკ ი იპერივანო პოლუშარიი, სვიდეტელსტუეო თო, ცხო სრავო ჟე პოსლე იპერაციი პერეკრესტ ვოსხოდაქიე იმპულსაციი მოქესტ ვოსუესტვლელსო კაკ ვოშე, თაკ ი ნიჟე ივონი პერერეკი [2]. ზოთ ფაკტ მოქესტ სლუჟივთ დოკავტელსტვო მნოგოკანალნიო პრედვედ-

ნიჟი სენსორნი იმპულსაციი ნა ივონიე სრედნოე მოგო. მოქესტ თაკ ჟე პრედპოლოჟი, ცხო ზე ვ რანიე სრეკი პოსლე იპერაციი ვსტუაქეს ვ სილუ კომპენსატორნი პროცეს, ნაპრავლენნი ნა იზმენენე ფუნქციონალნიჟი სვოიჟს ნეირონო, ნე პოპავში ვ ზონუ დეიქვნი პოვრეჟდაქიე ფაკტორ [6].

ЛИТЕРАТУРА

1. Батуев А. С. Физиология сенсорных систем, ЛГУ, Л., 1976, 21—27.  
 2. Любимов Н. Н. В сб.: Механизмы пластичности мозга (Мат. конф.), Махачкала, 1982, 12—13.  
 3. Руководство по нейротравматологии, «Медицина», М., 1978.  
 4. Сенаторов В. В. Нейрофизиология, 13, 6, 612—619, 1981.  
 5. Силаков В. Л., Дыбовский А. П.

Журн. высш. нервн. деят., 32, 1, 100—105, 1982.  
 6. Синяя М. С., Силаков В. Л., Мгалоблишвили Г. И., Сенаторов В. В., ДАН СССР, 201, 6, 1500—1503, 1985.  
 7. Mann M. D. Brain Res., 1, 1, 3—12, 1979.  
 8. Mountcastle V. B., Davis P. W., Bergman A. L. J. Neurophysiol., 20, 2, 374—380, 1957.

კანის რეცეპტული ველისა დო შკანა კიდეურეპის ბალინიანიბაჟო ნეირონული რეაქციის ვესწავლა S1 ზონაში, კატის ტვინის ვეჟენცეფალური კვირისაქციის ვეგედო

კიდეურეპის ბალინიანიბაჟო ზონაში, კატის ტვინის

3. გელოგლიოვილი

თბილისის სახელმწიფო სამედიცინო ინსტიტუტი

რეზიუმე

კატებზე, ოთხგორაკის დონეზე კვირსექციის ვემდეგ, სხვადასხვა დროს (2 საათის ვემდეგ დო მერე — 6 თვის ვემდეგ) ვესწავლილ იქნა ახალი ქერქის S1 ზონის ნეირონთა კომპენსატორული ვარდაქმნები. ვამორიკვა, რომ ოპერაციიდან 2 საათის ვემდეგ ორივე კვირსეფროში კონტრალატერალურად აღირიცხება რეცეპტული ველის ვესაბამისი ნეირონების აქტივობა. ეს ფაქტი იმის მანიშნებელია, რომ სენსორული იმპულსაცია შუა ტვინის დონეზე მრავალი აფერენტული ბოკოვბით-ტარდება დო რომ ოპერაციის ვემდეგ მალე იჩენს თავს კომპენსატო-

რული პროცესები, რომლებიც ვესცვლიან ნეირონთა მოქმედების ხასიათს. ოპერაციიდან 6 თვის ვემდეგ არაოპერირებულ მხარეზე თავს იჩენს ისეთი უჯრედები, რომლებსაც როგორც იპსი, ისე კონტრალატერალურად მკვეთრად ვამოხატული რეცეპტული ველეუბი ვააჩნიათ. დასაშვებია, რომ აღნიშნული ოპერაციის ვემდეგ არაოპერირებული მხარე თავის თავზე იღებს ოპერირებული მხარის ფუნქციას, რაც იმიოთ დასტურდება, რომ რეაქტიული ნეირონები რაოდენობრივად იზრდება ოპერაციის ვემდეგ.

STUDY OF SKIN RECEPTIVE FIELDS AND RESPONSES OF  
INDIVIDUAL NEURONS TO HIND LIMB STIMULATION IN  
AREA  $S_1$  DURING MESENCEPHALIC HEMISECTION OF THE  
CAT'S BRAIN



G. I. MGALOBISHVILI

State Medical Institute, Tbilisi, USSR

S u m m a r y

Compensatory reorganization of functional characteristics of neurons in the neocortical area  $S_1$  was studied in different periods (in 2 hours and 5 months) of hemisection at the collicular level. The cells with the contralateral receptive field were shown to appear in 1—2 hours after the surgery both in the intact and lesioned hemisphere. This finding indicates that there is multichannel conduction of sensory impulses at the level of midbrain and that shortly after the surgery compensatory processes directed to

alter the properties of neurons are triggered. In five months the cells in area  $S_1$  on the lesioned side become completely unresponsive. However on the intact side some cells are found with distinct receptive field disposed on both the ipsi—and contralateral sides of the body. It is supposed that following such surgery the intact side becomes responsible for the function of the lesioned one and this is clearly evidenced by the increase in the number of reactive neurons.

УДК 591.82

ГИСТОЛОГИЯ

## АНТИСЫВОРОТКИ УЗКОЙ СПЕЦИФИЧНОСТИ К АНТИГЕНАМ КРОВЕТВОРНЫХ КЛЕТОК РАЗНЫХ ГРЫЗУНОВ

Н. С. Квачантирадзе, Т. В. Васильева, Т. В. Мичурина,  
Т. М. Никонова, Г. Д. Туманишвили, Н. Г. Хрущов

*Институт биологии развития им. Н. К. Кольцова АН СССР; Москва  
Тбилисский государственный университет*

Поступила в редакцию 18.10.1985

На основании данных о перекрестно-реагирующих антигенах кроветворных клеток костного мозга ряда грызунов применены различные варианты истощения антисывороток к нерастворимым антигенам кроветворных клеток мыши, сирийского и джунгарского хомячков. Показана возможность получения антисывороток узкой специфичности, избирательно реагирующих с клетками костного мозга 1) только мыши, 2) мыши и джунгарского хомячка, 3) джунгарского и сирийского хомячков.

Детальная характеристика особенностей белковой (антигенной) структуры соматических, в том числе и кроветворных, клеток — одно из актуальных и перспективных направлений изучения молекулярно-генетических основ дифференцировки и цитофизиологии тканевых клеток. Помимо необходимой инвентаризации всего многообразия клеточных белков того или иного тканевого типа, особое значение имеет выявление антигенов, определяющих специфичность дифференцировки, а также идентификация молекул, участвующих в межклеточных взаимодействиях, выполняющих функцию рецепторных структур для различных регуляторов и т. п. Получе-

ние сведений по упомянутым выше вопросам связано с большими техническими трудностями, так как проводить исследования необходимо на уровне отдельной клетки. Кроме того, тканевая и функциональная специфичность клеток и их дифференцировка могут определяться как пока не доступными объективной регистрацией минорными белковыми компонентами, так и, возможно, изменениями самих белковых молекул.

В свете вышесказанного, выявление узкоспецифических (в том числе и видоспецифических) антигенов клеток кроветворной ткани разных животных представляет несомненный интерес.

### МАТЕРИАЛ И МЕТОДИКА

Для получения антисывороток к кроветворным клеткам мыши, сирийского и джунгарского хомячков проводили иммунизацию кроликов суспензией клеток костного мозга соответствующего вида животных. Клетки костного мозга извлекали из бедренных и большеберцовых костей, 2—3 раза отмывали средой № 199, центрифугировали и осадок клеток использовали для иммунизации. каждо-

му кролику (весом около 2 кг) вводили  $2 \cdot 10^8$  кроветворных клеток. Реиммунизацию осуществляли через 30 суток после первичной иммунизации путем внутримышечного введения антигена. Имунную сыворотку получали на 8 и 10-е сутки после реиммунизации. Нативные иммунные сыворотки адсорбировали нормальной сы-



вороткой крови соответствующего вида животных, хранили в замороженном состоянии с добавлением азида натрия. Для удаления антител к перекрестно-реагирующим антигенам проводили истощение антисывороток клетками кроветворных органов того или иного вида животных.

О наличии в антисыворотках антител судили с помощью непрямого иммунофлуоресцентного метода. Реакцию непрямого связывания антител проводили на монослой клеток костного мозга, фиксированных 10%-ным нейтральным формалином. Использовали ослиную антисыворотку к иммуноглобулинам кролика, меченную изотиоцианатом флуоресцеина (ИЭМ им. Н. Ф. Гамалеи). Реакцию проводили во влажной камере при комнатной температуре. Продолжительность инку-

бации препаратов с кроличьей иммунной сывороткой, так же как и с ослиной люминесцирующей сывороткой, составляла 30—40 мин. После каждой инкубации препараты отмывали забуференным (рН-7,2) физиологическим раствором. Препараты заключали в глицерин-фосфатный буфер (рН-7,2). Для оценки специфичности реакции проводили следующие контроли: 1. истощение рабочей сыворотки рабочим антигеном; 2. инкубация без иммунной сыворотки; 3. реакция на клетках, заведомо не содержащих искомым антиген; 4. реакция с нормальной кроличьей сывороткой; 5. аутофлуоресценция. Исследование проводили на люминесцентном микроскопе МЛ-2Б с фазово-контрастной приставкой.

## РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

Иммунохимическое исследование антисывороток к нерастворимым антигенам клеток костного мозга мыши (АМКМ-1), сирийского (АСКМ-1) и

дельную иммунофлуоресцентную реакцию с клетками костного мозга всех исследованных нами грызунов (табл. 1; рис. 1). Эти данные подтвер-

Рис. 1. Монослой клеток костного мозга сирийского хомячка (об. X 90, ок. X 3,8); а — не прямой иммунофлуоресцентный метод с использованием антисыворотки к клеткам костного мозга сирийского хомячка (АСКМ-1), б — то же, фазовый контраст

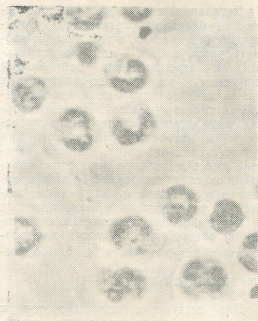
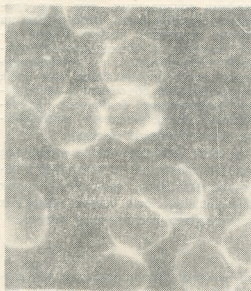


Рис. 1. Монослой клеток костного мозга сирийского хомячка (об. X 90, ок. X 3,8); а — не прямой иммунофлуоресцентный метод с использованием антисыворотки к клеткам костного мозга сирийского хомячка (АСКМ-1), б — то же, фазовый контраст

джунгарского (АДКМ-1) хомячков показало, что каждая из них представляет собой поливалентную антисыворотку, так как обнаруживает положи-

ждают предположение о существовании антигенов кроветворных клеток, общих для большой группы животных [1, 2, 3]. С целью получения узкоспе-



цифических антисывороток были проведены различные варианты истощения исходных антисывороток клетками гемопоэтических органов различных грызунов.

После адсорбции АМКМ-1 клетками кроветворных органов крысы получили узкоспецифическую антисыворотку

видоспецифических антигенов кроветворных клеток мыши. О видоспецифических антигенах клеток костного мозга крысы сообщалось ранее [1, 2, 3].

В результате адсорбции исходных антисывороток АСКМ-1 и АДКМ-1 клетками кроветворных органов крысы

Таблица 1.

Реакции антисывороток к кроветворным клеткам мыши, сирийского и джунгарского хомячков с клетками костного мозга ряда грызунов

Антисыворотка	АМКМ - 1	АМКМ - 2	АМКМ - 3	АСКМ - 1	АСКМ - 2	АСКМ - 3	АДКМ - 1	АДКМ - 2	АДКМ - 3	АДКМ - 4	АДКМ - 5
Мышь	+++	++	++	++	-	-	+	+	-	-	-
Крыса	+++	-	-	++	-	-	++	-	-	-	-
Сирийский хомячок	+-	-	-	++	++	-	++	++	+	-	-
Джунгарский хомячок	+-	+	-	++	++	-	++	++	++	-	++
Морская свинка	+-	-	-	+-	-	-	+	-	-	-	-

АМКМ - 1, АСКМ - 1, АДКМ - 1 — исходные антисыворотки к клеткам костного мозга мыши, сирийского и джунгарского хомячков

АМКМ - 2, АСКМ - 2, АДКМ - 2 — антисыворотки, полученные в результате истощения соответствующих исходных антисывороток клетками кроветворных органов крысы

АМКМ - 3, АСКМ - 3 — антисыворотки, полученные в результате истощения АМКМ - 1 и АСКМ - 1 клетками кроветворных органов крысы и джунгарского хомячка

АДКМ - 3 — антисыворотка, полученная в результате истощения АДКМ - 1 клетками кроветворных органов крысы и мыши

АДКМ - 4 — антисыворотка, полученная после истощения АДКМ - 1 клетками кроветворных органов крысы, мыши и сирийского хомячка

АДКМ - 5 — антисыворотка, полученная после истощения АДКМ - 1 кроветворными клетками мыши

Примечание: число „+“ в таблице пропорционально числу светящихся клеток и интенсивности флуоресценции

ку, реагирующую с костномозговыми клетками мыши и джунгарского хомячка. Это наблюдение указывает на наличие узкоспецифических межвидовых антигенов, общих для кроветворных клеток мыши и джунгарского хомячка, но отсутствующих на кроветворных клетках крысы (табл. 1). Последующее истощение АМКМ-2 клетками кроветворных органов джунгарского хомячка привело к получению видоспецифической антисыворотки АМКМ-3, реагирующей только с кроветворными клетками мыши, и позволило предположить существование

сы получили антисыворотки, обозначенные соответственно как АСКМ-2 и АДКМ-2. Они реагировали с костномозговыми клетками и сирийского и джунгарского хомячков, а АДКМ-2, кроме того, и с костномозговыми клетками мыши (табл. 1). После адсорбции АДКМ-2 кроветворными клетками мыши была получена узкоспецифическая антисыворотка АДКМ-3, сходная по свойствам с антисывороткой АСКМ-2 и реагирующая с клетками костного мозга только джунгарского и сирийского хомячков. Однако истощение АДКМ-3 клетками кроветвор-



ნების ორგანო სირიის ხომალკის პრ-  
 ვიდილი კ იშვიზნოვნიუ იმუნოფლუ-  
 რესცენტი რეაქციის ნო ტოლიკო ს კლ-  
 კამი კოსტო მოზგა სირიის ხომალკის,  
 ნო ი ს კლ-კამი კოსტო მოზგა დუნგარსკო  
 ხომალკის. ანტისვიორტკა ასკმ-2 პოსლე  
 ეე ადსორბიცი კრევეტვორნი კლ-კამი  
 დუნგარსკო ხომალკის თოჟე უტრაცივალა  
 სპოსობნო სვიზვივალა ს კლ-კამი კოსტო  
 მოზგა სირიის ხომალკის (ტაბლ. 1).  
 ტაკიმ ობრავო, პოლუჩიტი ვიდოსპეცი-  
 ფიჩესკიე ანტისვიორტკი კ კრევეტვორ-  
 ნი კლ-კამი სირიის, ა ტაკჟე დუნგარსკო  
 ხომალკის ნე უდალოს. ნე უდალოს პოლუჩიტი  
 იხ ი პუტე ადსორბიცი ანტისვიორტკი  
 ადკმ-1 კლ-კამი კრევეტვორნი ორგანო  
 მიში. პოსლე ადსორბიცი მიშინი კლ-  
 კამი ანტისვიორტკა ადკმ-5, იდენტიჩ-

ნაი პო იმუნოფლურესცენტი სვი-  
 სტვამ ადკმ-2 ი ადკმ-5 რეაქცი-  
 ვალა კაკ ს კლ-კამი დუნგარსკო,  
 ტაკ ი სირიის ხომალკის. ისოშენი  
 ადკმ-5 კრევეტვორნი კლ-კამი  
 სირიის ხომალკის პრ-ვიდილი კ პო-  
 ტერე ანტიტელ ი კ კლ-კამი დუნგარსკო  
 ხომალკის. ოდნაკო ნეუდაჩა ვ პო-  
 ლუჩენი ვიდოსპეციფიჩესკი ანტისვი-  
 ვორტოკ კ კლ-კამი კოსტო მოზგა სირიის  
 ხომალკის ი დუნგარსკო ხომალკის ნე  
 დავ დოსტატოჩნი ოსნოვანიი დია ვი-  
 ვოდა ობ ოტსუტსვიი ვიდოსპეციფიჩესკი  
 ანტიგენო კრევეტვორნი კლ-კამი  
 ეტიხ გრვიზუნო. დია ოკონჩატელნი  
 ზაკლუჩენი ნეობხიდი დოპოლნიტელნი  
 იმუნოხიმიჩესკი ისლედოვანი (პო-  
 დბორ ოსლოვი იმუნისაციი, იდენტიფი-  
 კაციი ბელკოვი კომპონენო კრევეტ-  
 ვორნი კლ-კამი ი ტ. პ.).

ლიტერატურა

1. Хрущов Н. Г., Васильева Т. В., Ми-  
 чурин Т. В. ДАН СССР, 274, I, 193—  
 196, 1984.  
 2. Хрущов Н. Г., Васильева Т. В., Ми-  
 чурин Т. В., Никонова Т. М. В кн.:  
 Вопросы эволюции онтогенеза, «Наука»,  
 М., 1985, 134—138.  
 3. Хрущов Н. Г., Мичурин Т. В., Ва-  
 сильева Т. В., Зотин А. А., Ми-  
 хина Л. В., Иванов А. А. В кн.: Имму-  
 нологические аспекты биологии развития.  
 «Наука», М., 1984, 166—189.

სხვადასხვა მღრღნელის სისხლმზავ უჯრედთა ანტიგენების მიმართ  
 მიწროდ სპეციფიკური ანტიშრატები

ბ. კვაპანტირაძე, თ. ვასილვა, ბ. მიჩურიანი, ბ. ნიკონოვა, ზ. თუვათიანი,  
 ნ. ხრუშოვი

სსრკ მეცნიერებათა აკადემიის ნ. კოლცოვის სახელობის განვითარების ბიოლოგიის ინსტიტუ-  
 ტი, მოსკოვი  
 თბილისის სახელმწიფო უნივერსიტეტი

რ ე ზ ი უ მ ე

სხვადასხვა მღრღნელის ძვლის ტვინის  
 სისხლმზავ უჯრედთა გადაკვეთად-მო-  
 რეაგირე ანტიგენების შესახებ ცნობებზე  
 დაყრდნობით, ნაშრომში გამოყენებულია  
 თავისი, სირიული და ჭუნგარის ომანას  
 სისხლმზავ უჯრედთა უხსნადი ანტიგენე-  
 ბის მიმართ მიღებულ ანტიშრატთა გამო-

ფიტვის სხვადასხვა ვარიანტი. ნაჩვენე-  
 ბია ვიწროდ სპეციფიკური ისეთი ანტი-  
 შრატების მიღების შესაძლებლობა, რომ-  
 ლებიც შერჩევითად რეაგირებენ 1) მხო-  
 ლოდ თავისი, 2) თავისა და ჭუნგარის  
 ომანას, 3) ჭუნგარისა და სირიული ომა-  
 ნას ძვლის ტვინის უჯრედებთან.

# NARROW SPECIFICITY ANTISERA AGAINST THE ANTIGENS OF HEMOPOIETIC CELLS IN RODENTS



N. S. KVACHANTIRADZE, T. V. VASILIEVA, T. V. MICHURINA,  
T. M. NIKONOVA, G. D. TUMANISHVILI, N. G. KHRUSHCHOV

N. K. Koltsov Institute of Biology of Development, USSR Academy of Sciences, Moscow  
Tbilisi State University, USSR

## S u m m a r y

Basing on the data of cross-reacting antigens of the bone marrow hemopoietic cells in rodents some variations of anti-serum adsorption against insoluble antigens of mice, golden hamster and Jungarian hamster hemopoietic cells were applied. Possibility to obtain the narrow specificity antisera selectively reacting to the bone marrow cells of: 1) only mice, 2) mice and Jungarian hamster, 3) Jungarian and golden hamsters is shown.

УДК 616—006.442.2

ЦИТОЛОГИЯ

## ПРИМЕНЕНИЕ ЭЛЕКТРОННОЙ МИКРОСКОПИИ ДЛЯ ИДЕНТИФИКАЦИИ Т- и В-ЛИМФОЦИТОВ ЧЕЛОВЕКА

В. В. Меунаргия, Г. К. Гогичадзе, Н. М. Катанджян

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

Поступила в редакцию 12.04.1984

Изучена тонкая структура выделенных из периферической крови человека в градиенте плотности фиколл-верографина Т- и В-лимфоцитов. Проведенные электронно-микроскопические и морфометрические исследования позволяют сделать заключение о перспективности применения электронного микроскопа просвечивающего типа в разграничении Т- и В-лимфоцитов. Разграничение этих клеток вместе с теоретической может иметь и определенную практическую ценность при уточнении классификации некоторых форм лейкозов и лимфосарком.

Иммунная система организма в основном представлена лимфоидной системой. Лимфоидная популяция в функциональном отношении гетерогенна. Она состоит из тимусзависимых и бурсазависимых популяций, обозначаемых как Т- и В-клетки и определяемых по поверхностным рецепторам иммунологическими методами [8].

В последние годы появились работы, посвященные попыткам идентификации Т- и В-клеток посредством электронной микроскопии как сканирующего, так и трансмиссионного типов [4, 5, 6, 9]. В трансмиссионном микроскопе, по некоторым данным [9], В-клетки имеют более богатый эндоплазматический ретикулум, отмечают также некоторые различия и в

электронноплотных гранулах. Выявленные в сканирующем электронном микроскопе различия между Т- и В-клетками в поверхностной морфологии, как было показано в последнее время [6], были обусловлены несовершенной техникой приготовления препаратов. Таким образом, выявляемые в трансмиссионном и сканирующем электронных микроскопах различия явно недостаточны для проведения морфологического разграничения Т- и В-лимфоцитов.

Задачей данного исследования явилось электронномикроскопическое и морфометрическое изучение Т- и В-лимфоцитов с целью выявления в них ультраструктурных специфических признаков.

### МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Было проведено электронномикроскопическое изучение выделенных из периферической крови доноров в градиенте фиколл-верографина Т-лимфоцитов (2 наблюдения), В-лимфоцитов (3 наблюдения) и смеси этих клеток (10 наблюдений). Выделение Т- и В-лимфоцитов в градиенте плотности фиколл-верографина проводили следующим образом: 5 мл крови осторожно насливали на 3 мл фиколл-верографина, а затем центрифугировали

при 1700 об/мин в течение 45 мин. Для выделения Т-клеток использовали тест розеткообразования с эритроцитами барана, с последующим центрифугированием в градиенте. Таким образом, получали обогащенные Т- и В-клетками суспензии. Суспензированные в среде клетки осаждали при 1500 об/мин в течение 3 мин. Материал помещали в 1%-ный раствор глутаральдегида на 0,1 М фосфатном буфере в течение 30 мин, а затем в



1%-ный раствор четырехоксида осмия, также в течение 30 мин. После обезвоживания в спиртах восходящей концентрации материал заливали в эпон. После контрастирования в уранил-ацетате и цитрате свинца ультратонкие срезы просматривали в электронном микроскопе ТЕСЛА БС-500 при инструментальном увеличении от 3000 до 50000.

В работе проведено также определение ультраструктурных морфометрических параметров клеточных органоидов Т- и В-лимфоцитов. В частности, в работе изучали 4 системы органоидов — митохондриальный аппарат, шероховатый эндоплазматический ретикулум, свободные рибосомы и гранулы. Для митохондрий определяли один морфометрический параметр — объемную фракцию —  $V_V^M$  (количество  $мк^3$  митохондриального объема в  $1 мк^3$  цитоплазмы). Объемную фракцию митохондрий получали как отношение количества тест-точек сетки, попадающих на митохондрии, к количеству тест-точек, попадающих на весь срез цитоплазмы, т. е.  $V_V^M = \frac{P}{P_r}$  [1, 2]. При морфометрическом изучении шероховатого эндоплазматического ретикулума определяли 2 параметра:  $S_V^a$  — удельную площадь мембран эндоплазматического рети-

## РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Выделенные в фиколл-верографии В-лимфоциты представлены клетками, имеющими много общих ультраструктурных признаков с лимфоцитами при хроническом лимфолейкозе (рис. 1а, 1б). Ядерно-цитоплазматическое отношение в этих клетках высокое. Ядро чаще сферической формы, нередко с инвагинациями ядерной мембраны. Нуклеоплазма четко дифференцирована. Ядрышки гомогенные, нечеткие. Цитоплазма узкая, агранулярная, электронноплотные гранулы очень редки. Органеллы в ней представлены в незначительном количестве. Митохондрий немного. Рибосомы и элементы шероховатого эндоплазматического ретикулума представлены в незначительном количестве.

кулума (количество  $мк^2$  мембран эндоплазматического ретикулума в  $1 мк^3$  цитоплазмы) и  $NE_{ste}$  — степень гранулированности этого органоида (количество рибосом, прикрепленных к мембранам эндоплазматического ретикулума длиной в  $1 мкм$ ) [3]. Удельную площадь мембран эндоплазматического ретикулума вычисляли по формуле:  $S_V^a = (2PL^3/L) \cdot (M/1000)$  [10], где  $PL^3$  — количество пересечений мембранных линий сетки со следами мембран этого органоида. При морфометрическом анализе свободного рибосомального аппарата определяли количество рибосом и полисом ( $NA^{PP}$ ). На основании вышеперечисленных параметров вычислялись коэффициенты степени развития гранулярного эндоплазматического ретикулума ( $K_g$ ) и свободных рибосом ( $K_{PP}$ ):  $K_g = 10NL^{pa}$ .

$\cdot S_V^a$ ;  $K_{PP} = 10NA^{PP}$  [7]. Для гранул, как и в случае митохондрий, определяли объемную фракцию —  $V_V^G$ . После этого выводилась средняя арифметическая по группе и вычислялась средняя арифметическая по формуле  $\frac{\sigma}{V \cdot n}$ ,

где  $\sigma$  — среднее квадратическое отклонение, а  $n$  — количество наблюдений. Статистическую достоверность ( $t$ ) вычисляли по Стьюденту.

Выделенные в фиколл-верографии Т-лимфоциты представлены отличными от вышеописанных В-лимфоцитов клетками. Ядерно-цитоплазматическое отношение в них среднее или даже низкое. Форма ядра этих клеток варибельная, наблюдаются значительные инвагинации ядерной мембраны. Ядрышки четкие. Цитоплазма Т-лимфоцитов широкая, электроннопрозрачная (рис. 2а, 2б). Митохондрии, структуры эндоплазматического ретикулума и рибосомы представлены незначительно. В большом количестве выявляются электронноплотные гранулы различного размера, вероятно лизосомы и липидные включения (рис. 2а). Поверхность Т-клеток, в отличие от В-лимфоцитов, неровная, с уро- и псевдоподиями.

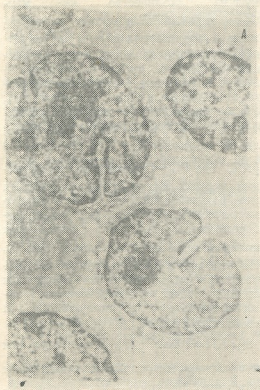


Рис. 1. В-лимфоциты с высоким ядерно-цитоплазматическим отношением (а)  $\times 4000$  и с митохондриями и элементами эндоплазматического ретикулума в цитоплазме (б)  $\times 5000$

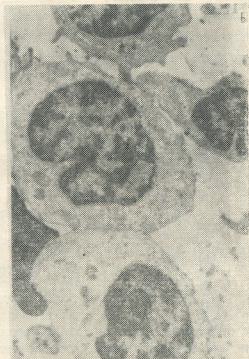


Рис. 2. Т-лимфоциты с электронноплотными гранулами в цитоплазме (а)  $\times 300$  и с электроннопрозрачной цитоплазмой и неровной поверхностью (б)  $\times 4000$

Таблица 1. Сравнительные морфометрические данные Т- и В-лимфоцитов

Коэффициенты и параметры	Т-лимфоциты	В-лимфоциты
КП	804 ± 64,6	917 ± 45,3
$K_3$	23,90 ± 2,33*	147,7 ± 40,5*
$S_v^3$	0,391 ± 0,03	0,050 ± 0,11
NL <sup>р3</sup>	6,1 ± 0,38*	27,7 ± 1,28*
$V_v^M$	0,008 ± 0,004	0,014 ± 0,002
$V_v^Г$	0,018 ± 0,002*	0,003 ± 0,0009*

\* — данные различаются с 95%-ной достоверностью;  $t > 2$

### ОБСУЖДЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ

При ультраструктурном морфологическом и морфометрическом исследовании обращает на себя внимание различное ядерно-цитоплазматическое соотношение в Т- и В-клетках. В В-клетках оно значительно выше. Форма ядра в Т-клетках значительно вариабельнее. Степень дифференциации нуклеоплазмы выражена более или менее одинаково, хотя в Т-лимфоцитах переходные тона между гетеро- и эухроматином более резко выражены. В Т-лимфоцитах цитоплазма более широкая и электроннопрозрачная. Цитоплазма как Т-, так и В-лимфоцитов бедна органеллами, однако в В-клетках она агранулярная, тогда как в Т-клетках нередко в значительном количестве выявляются липидные включения и электронноплотные гранулы меньшего размера, вероятно лизосомального происхождения. Чаще они сконцентрированы у одного полюса цитоплазмы. В клетках данного типа значительно чаще выявляются псевдо- и урододии. Кроме того, в В-лимфоцитах интенсивнее выражены структуры эндоплазматического ретикулула. По-видимому, вышеописанные ультраструктурные различия между Т- и В-лимфоцитами детерминиро-

Выделенная в фиколе так называемая смесь Т- и В-лимфоцитов представлена обоими вышеописанными типами клеток.

Морфометрический анализ Т- и В-лимфоцитов доноров позволил выявить четкие количественные различия между ними (табл. 1). В частности, выявлены статистически достоверные различия по коэффициенту шероховатого эндоплазматического ретикулула ( $K_3$ ) а также по степени гранулированности этого органоида (NL<sup>р3</sup>). Статистически достоверны также различия по объемной фракции гранул ( $V_v^M$ ).

ваны их различной функциональной активностью.

Количественный анализ Т- и В-лимфоцитов по коэффициенту шероховатого эндоплазматического ретикулула, по степени гранулированности этого органоида и объемной фракции гранул может в некоторых случаях облегчить разграничение этих клеток друг от друга.

Таким образом, на основании полученных данных можно сделать заключение о перспективности применения электронного микроскопа просвечивающего типа в разграничении тимуснезависимых и зависимых от тимуса лимфоцитов. При тщательном изучении материала и надлежащего опыта, идентификация их в электронном микроскопе представляется вполне возможной. Несмотря на отсутствие так называемого абсолютного морфологического критерия вышеописанные ультраструктурные и морфометрические особенности позволяют с достоверностью дифференцировать Т- и В-лимфоциты, что вместе с теоретической может иметь и определенную практическую ценность, выражающуюся в уточнении классификации некоторых форм лейкозов и лимфосарком.

### ЛИТЕРАТУРА

1. Автандилов Г. Г. Введение в количественную патологическую морфологию, «Медицина», М., 1977.
2. Вейбель Э. Р. Морфометрия легких человека, «Медицина», М., 1970.
3. Кац В. А. Морфологические подходы к изучению ультраструктуры клетки в некоторых вопросах онкоморфологии. Автореф. канд. дисс. М., 1974.

4. Козинец Г. И., Талаленова Н. И., Шишканова З. Г. Пробл. гемат. и перел. крови, 7, 44—47, 1979.
5. Крымский Л. Д., Нестайко Г. В. Вестник АМН СССР, 8, 67—77, 1976.
6. Satovsky D., Enno A. Lymphology, 10, 2, 77—84, 1977.
7. Lagubov A. S., Kas V. A. Gegenb. Morph. Jahrb., Leipzig, 126, 3, 303—306, 1980.
8. Jondal I. J. Exp. Med., 136, 207, 1972.
9. Kataoka K. J. Electr. micr., 26, 3, 269—277, 1977.
10. Lond A. V., Barany W. S., Pack B. A. Lab. invest. 14,6, 996—1006, 1965.

ელექტრონული მიკროსკოპის გამოყენება ადამიანის T- და B-ლიმფოციტების სანიმუშიანი სანიმუშიანი

ვ. მიუნარგია, გ. გოგიჩაძე, ნ. კატანჯიანი

საქართველოს ჯანმრთელობის დაცვის სამინისტროს გ. მუხაძის სახელობის პემატოლოგიის და სისხლის გადასხმის სამეცნიერო-კვლევითი ინსტიტუტი, თბილისი

რ ე ზ ი უ მ ე

ელექტრონული მიკროსკოპით შესწავლილ იქნა ადამიანის T-და B-ლიმფოციტები. ჩატარებულმა ულტრასტრუქტურულმა და მორფომეტრიულმა გამოკვლევამ საშუალება მოგვცა ამ უჯრედების დიფერენცირებისა. ყოველივე ამას, თეო-

რიულთან ერთად, საკმაო პრაქტიკული მნიშვნელობა აქვს, ვინაიდან გვეხმარება ლეიკოზებისა და ლიმფოსარკომების ზოგიერთი ფორმის კლასიფიკაციის დაზუსტებაში.

## IDENTIFICATION OF HUMAN T- and B- LYMPHOCYTES IN ELECTRON MICROSCOPE

V. V. MEUNARGIA, G. K. GOGICHADZE, N. M. KATANJIAN

G. Mukhadze Research Institute of Hematology and Blood Transfusion Georgian Ministry of Health, Tbilisi, USSR

### S u m m a r y

The fine structure of human T- and B-lymphocytes was studied. Ultrastructural and morphometrical investigations

made it possible to differentiate these cells. These data have theoretical and practical value.



УДК 576.340

ЦИТОЛОГИЯ

## ДИНАМИКА ФУНКЦИОНАЛЬНО ОБУСЛОВЛЕННЫХ ИЗМЕНЕНИЙ СОДЕРЖАНИЯ РНК В КЛЕТКАХ ПУРКИНЬЕ ПРИ МНОГОКРАТНОЙ ВЕСТИБУЛЯРНОЙ СТИМУЛЯЦИИ МОЗЖЕЧКА КРЫС

З. А. Микеладзе

*Институт биологии развития им. Н. К. Кольцова АН СССР, Москва*

*Тбилисский государственный университет*

Методом ультрафиолетовой цитофотометрии показано, что многократная стимуляция вестибулярной функции мозжечка не меняет характера функционально обусловленных колебаний содержания нуклеиновых кислот (практически РНК) в клетках Пуркинье, выявляемого при однократной стимуляции месячных крыс.

Гетерогенность популяции клеток Пуркинье по содержанию ДНК показана для различных животных в ряде работ [1, 2, 3]. Выявлена и гетерогенность клеток Пуркинье по содержанию ядрышковых нуклеиновых кислот [5]. Часть этой нейронной популяции синтезирует небольшое количество ДНК в период постнатальной дифференциации [8]. Сопоставление цитофотометрических и автордиографических данных делает гипотезу об амплификации

рДНК генов [7] наиболее вероятной попыткой объяснения способов образования и назначения гипердиплоидных (Н2с) клеток, наличие которых обуславливает вышеуказанную гетерогенность клеток Пуркинье по содержанию ДНК в них.

Исходя из этого представляет интерес исследование влияния специфических функциональных нагрузок на содержание и распределение нуклеиновых кислот в клетках Пуркинье.

### МЕТОДИКА

Работа выполнена на крысах-самцах линии Вистар. Животных с 3 по 30-й день после рождения подвергали горизонтальному вращению со скоростью 60 об/мин ежедневно в течение 2 ч. При последнем вращении через 10, 20, 30, 40, 50 и 60 мин (после начала вращения) декапитировали по 3 крысы и выделяли nodulus червя мозжечка. После фиксации в смеси формалина, спирта и уксусной кислоты (3:1:0,3) в течение 1 ч кусочки заливали в парафин. Срезы толщиной

около 5 мкм фотографировали в УФ-лучах с длиной волны 265 нм (МУФ-6, объектив 50×0,8) до и после экстракции нуклеиновых кислот 5% HClO<sub>4</sub> (90°C, 60 мин.). Негативы фотометрировали на микрофотометре МФ-4. Содержание нуклеиновых кислот в ядрах, ядрышках и цитоплазме определяли как произведение оптической плотности на площадь соответствующих структур, определенную планиметрически.

Вестибулярная стимуляция адаптируемых 30-дневных крыс со скоростью 60 об/мин выявила кривые изменения количества РНК в цитоплазме, ядре и ядрышке клеток Пуркинью (рис. 1). Кривые аналогичны кривым колебания содержания РНК в клетках Пур-

незначительно увеличен I пик за счет уменьшения разброса между животными, взятыми в опыт на 10-15 мин вращения. Количество нуклеиновых кислот в клетках Пуркинью адаптируемых контрольных животных немного превосходит уровень интактных жи-

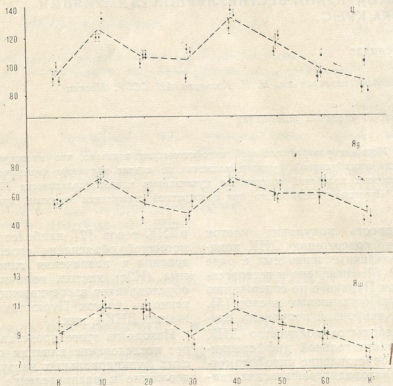


Рис. 1. Количество нуклеиновых кислот в цитоплазме (ц), ядрах (Яд) и ядрышках (Яш) клеток Пуркинью при вестибулярной стимуляции мозжечка 30-дневных крыс, подвергшихся многократному вращению. По оси абсцисс — время (мин), по оси ординат — количество нуклеиновых кислот (усл. ед.); К' — контроль интактный. Каждая точка — средняя арифметическая результатов УФ-цитофотометрии 50 клеток одной крысы; вертикальные черточки — ошибки средних

кинью 30-дневных крыс при однократной вестибулярной стимуляции [4]. Воспроизводятся и период и амплитуда колебаний, а также синфазность изменений в отдельных частях клеток; лишь чуть сглажен II пик и также

животных. Гистограммы распределения ядрышковых нуклеиновых кислот почти не отличаются от гистограмм однократно стимулированных животных [6]: не меняется ни число клеток, выходящих за пределы нормального рас-

пределения, ни величина избытка нуклеиновых кислот в этих клетках, ни число двуядрышковых клеток (рис. 2). Однако нет колебаний в асимметрии в течение 1 ч вращения животных. Наблюдается лишь варибельность внутри групп, взятых в опыт на разные временные точки воздействия. Гистограммы распределения количеств нуклеиновых кислот в цитоплазме достаточно хорошо воспроизводят асимметрию гистограмм ядрышковых нуклеиновых кислот. Таким образом, сравнение полученных в настоящем эксперименте данных с функционально обусловленными изменениями содержания РНК у однократно стимулированных животных [4, 6] указывает на отсутствие влияния многократной вестибулярной стимуляции вращением со скоростью 60 об/мин на выявленный ранее окологоризонтальный ритм колебания количества РНК в клетках Пуркинье. Намечаются слабо выраженные изменения колебаний асимметрии в распределении количеств нуклеиновых кислот. Однако требуется основательная проверка воспроизводимости этого явления, а также проведение дополнительных исследований, прежде

чем говорить о его связи с феноменом гипердиплоидии клеток Пуркинье

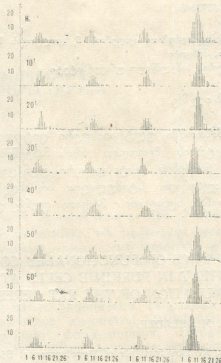


Рис. 2. Распределение количеств нуклеиновых кислот в ядрышках клеток Пуркинье при вестибулярной стимуляции 30-дневных крыс, подвергшихся многократному вращению. По оси абсцисс — количество нуклеиновых кислот (усл. ед.); по оси ординат — число клеток; К — контроль, К' — контроль интактный, цифры — время воздействия. В каждом ряду в начале расположены гистограммы отдельных животных, в конце — суммарная гистограмма. Прямая — одноядрышковая клетка, точка — двуядрышковая клетка

## ЛИТЕРАТУРА

1. Бродский В. Я., Агроскин Л. С., Лебедев Э. А. Журн. общ. биол., 35, 917—925, 1974.
2. Бродский В. Я., Маршак Т. Л., Московкин Г. Н. Цитология, 20, 5, 583—586, 1978.
3. Магакян Ю. А., Каралова Е. М. Цитология, 17, 653—659, 1975.
4. Микеладзе З. А. Булл. эксп. биол., 93, 94—96, 1982.
5. Микеладзе З. А., Бродский В. Я. Булл. эксп. биол., 90, 485—487, 1980.
6. Микеладзе З. А., Бродский В. Я. Булл. эксп. биол., 93, 105—107, 1982.
7. Brodsky W. Y., Marshak T. L., Mareš V. Histochem., 59, 233—239, 1979.
8. Brodsky W. Y., Marshak T. L., Mikeladze Z. A. Bas. Appl. Histochem., 28, 187—194, 1984.

პურკინის უჯრედებში რიზონანსური მუშაობის შემცველობის ცვლილებათა დინამიკა ვირთაგვების ნათხემის მრავალჯერადი ვესტიბულური გაღიზიანების დროს



ზ. მიქელაძე

სსრკ მეცნიერებათა აკადემიის ნ. კოლცოვის სახელობის განვითარების ბიოლოგიის ინსტიტუტი, მოსკოვი  
თბილისის სახელმწიფო უნივერსიტეტი

რ ე ზ ი უ მ ე

ნაშრომში ულტრაიისფერი ციტოფოტომეტრიის მეთოდით არის ნაჩვენები, რომ ნათხემის ვესტიბულური ფუნქციის მრავალჯერადი სტიმულაცია არ ახდენს გავლენას ნუკლეინის მჟავათა ფუნქციუ-

რად გაპირობებული იმ ცვლილებების ხასიათზე, რომლებიც ვლინდება ერთი თვის ასაკის ვირთაგვების ერთჯერადი სტიმულაციის დროს.

## DYNAMICS OF FUNCTIONALLY CONDITIONED CHANGES OF RNA CONTENT IN PURKINJE CELLS AT MULTIPLE VESTIBULAR STIMULATION OF THE RAT CEREBELLUM

Z. A. MIKELADZE

N. K. Koltsov Institute of Developmental Biology, Academy of Sciences of the USSR, Moscow  
Tbilisi State University, USSR

### S u m m a r y

By the method of ultra-violet cytophotometry it has been shown that multiple stimulation of the cerebellum vestibular function does not change the cha-

racter of functionally conditioned fluctuations of NA content (practically RNA) in Purkinje cells, that is revealed in single stimulation of a month old rats.



УДК 612.015.33

БИОХИМИЯ

## РАСПРОСТРАНЕНИЕ НЕКОТОРЫХ ХИМИЧЕСКИХ СОЕДИНЕНИЙ В РОДЕ *Trifolium* L. ФЛОРЫ ГРУЗИИ

К. Г. Шалашвили, М. Д. Алания

Институт фармакохимии им. И. Г. Кутателадзе АН ГССР

Поступила в редакцию 16.04.1984

Проведено исследование надземной части 30 видов рода клевера—*Trifolium* L., произрастающих на территории ГССР. Установлено, что характерным признаком для всего рода является наличие флавоноидов—производных кверцетина, кемпферола, формонетина и биоханина А, аминокислот и изопреноидов.

Из 300 видов клевера—*Trifolium* L. (сем. Fabaceae Lindb.), распространенных в умеренной и отчасти субтропической зоне Северного полушария, в Советском Союзе встречается 82, среди которых 40 произрастает в Грузинской ССР [1, 16]. Подавляющее большинство видов клевера является хорошей кормовой культурой [1, 4]. Клеверы считаются медоносными растениями [5, 6, 14]. Их издавна используют в народной медицине [2, 11]. Однако в научной медицине клеверы нашли применение лишь в последние годы—суммарный флавоноидный препарат «Тризофлан» из *T. pratense* предложен для лечения гиперхолестеринемии [7].

Многочисленные работы, посвященные изучению химического состава клеверов, показали, что они богаты флавоноидными соединениями. Особое внимание привлекло наличие в них изофлавонов, обладающих эстрогенной активностью [15]. А. Л. Казаков, проводя исследование флавоноидного состава 30 видов клевера, произрастающих на Кавказе, установил некоторую связь между химическим составом и их систематическим положением [8]. Нами показано, что клеверы флоры Грузии также содержат значительное количество флавоноидов; при углубленном изучении выделены

и идентифицированы 14 разных флавоноидов: кверцетин, кемпферол, лютеолин, формонетин, астрагалин, изокверцетин, популлин, робинин, трифолин, гиперин, цинарозид, дракоцефалозид, рутин, биоханин-А-7-глюкозид. Некоторые флавоноиды и суммарные препараты, полученные нами из клеверов, проявляют интересную биологическую активность [13, 18—23].

Дальнейший поиск физиологически активных соединений, могущих быть использованными в медицине, и выявление богатых их источников среди клеверов является важной задачей.

Хемотаксономическое изучение мы проводили на 30 видах клеверов, произрастающих на территории Грузии, остальные 10 видов, описанные во флоре Грузии, являются весьма редкими [1] и их сбор для анализов не представлялся возможным. Основываясь на последних данных по роду *Trifolium*, изучаемые нами виды расположены в 5 секциях и 22 рядах (таблица) [16, 17]. В качестве хемотаксономических признаков избраны флавоноидные гликозиды и их агликоны, аминокислоты, кумарины и изопреноиды. На флавоноиды иссле-

№	Species	Ser.	Sect.
1	<i>T. ambiguum</i> Bieb.	Ambigua Bobr.	Amoria (Presl) Lojac
2	<i>T. repens</i> L.	Rerentia Bobr.	
3	<i>T. hybridum</i> L.	Hybridia Bobr.	
4	<i>T. retusum</i> L.	Parviflora Bobr.	Micranthemum (Presl) Gelak
5	<i>T. ryliaosemium</i> Boiss et Hohen.	Badia Bobr.	Chronosemium Ser.
6	<i>T. spadiceum</i> L.		
7	<i>T. aureum</i> Poll.	Agraria Bobr.	
8	<i>T. campestre</i> Schreb.		
9	<i>T. fragiferum</i> L.	Fragifera (Gib. et Belli) Bobr.	Galearia (Presl) godr.
10	<i>T. bonanii</i> C. Presl.		
11	<i>T. tumens</i> Stev.	Hemiphysa (Čelak) Bobr.	Trifolium
12	<i>T. resupinatum</i> L.	Resupinata (Gib. et Belli) Bobr.	
13	<i>T. trichocephalum</i> Bieb.	Ochroleuca	
14	<i>T. caucasicum</i> Tausch.	(Gib. et Belli) Latsch.	
15	<i>T. canescens</i> Willd.		
16	<i>T. echinatum</i> Bieb.	Echinata Bobr.	
17	<i>T. angustifolium</i> L.	Angustifolia (Gib. et Belli) Bobr.	
18	<i>T. incarnatum</i> L.	Stellata (Gib. et Belli) Latsch.	
19	<i>T. phleoides</i> Pourr.	Phleoidea (Gib. et Belli)	
20	<i>T. scabrum</i> L.	Scabroidea (Gib. et Belli) Bobr.	
21	<i>T. striatum</i> L.	Stenosemium (Gelak) Latsch.	
22	<i>T. medium</i> L.	Intermedia (Gib. et Belli) Latsch.	
23	<i>T. alpestre</i> L.	Alpestris (Gib. et Belli) Bobr.	
24	<i>T. pratense</i> L.		
25	<i>T. fontanum</i> Bobr.	Pratensia (Gib. et Belli) Bobr.	
26	<i>T. diffusum</i> Ehrh.		
27	<i>T. apertum</i> Bobr.	Alexandrina (Zoh.) Latsch.	
28	<i>T. hirtum</i> All.		
29	<i>T. lappaceum</i> L.	Lappacea (Gib. et Belli) Bobr.	
30	<i>T. arvense</i> L.	Arvensia (Gib. et Belli) Bobr.	

TRIFO-  
LIUM L.

довали в отдельности листья, цветки и стебли растения, а на остальные соединения — в целом надземную часть.

Для анализа брали по 5 г воздушно-сухого измельченного сырья, собранного во время цветения растения. Экстракцию проводили 50 мл 80° этанола при нагревании. Из полученных экстрактов спирт упаривали, водный остаток очищали хлороформом и гущали. Для обнаружения флавоноидов и аминокислот экстракты хроматографировали на бумаге (БХ) в системе: н-бутанол—уксусная кислота—вода (4:1:5). Изопреноидный состав изучали методом тонкослойной хроматографии (ТСХ) в системе хлороформ-метанол (10:1). По 10 мл концентрированного

Как видно из рис. 1, листья клеверов отличаются весьма разнообразным составом флавоноидов; затруднено выявление общих характерных признаков. Можно лишь констатировать наличие флавоноидов в области Rf 0,47—0,55 для всех видов. Рассмотрим некоторые проанализированные нами секции.

В листьях секции *Atorgia* содержатся 7 одинаковых веществ с Rf 0,09; 0,22; 0,30; 0,35; 0,41; 0,50. Остальные пятна являются определяющими их индивидуальности. Из всех видов клевера секции *Atorgia* нами выделено вещество с Rf 0,50, идентифицированное как изокверцетин. В *T. ambiguum*

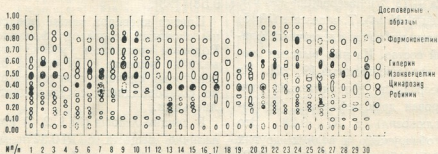


Рис. 1. Схема Б/Х очищенных экстрактов листьев клеверов флоры Грузии. Система: бутанол-уксусная кислота — вода (4:1:5)

экстракта гидролизovali 2%-ным раствором серной кислоты при нагревании, реакционную смесь после охлаждения извлекали этилацетатом, растворитель упаривали и остаток хроматографировали на бумаге для обнаружения кумаринов в системе хлороформ/формамид, а для флавоноидных агликонов — в системе н-бутанол—уксусная кислота—вода (4:1:5). Флавоноиды на хроматограммах обнаруживали 10%-ным раствором алюминия хлорида, аминокислоты — 1%-ным раствором нингидрина, изопреноиды — 25%-ным раствором фосфорно-вольфрамовой кислоты, кумарины 1%-ным раствором щелочи.

На рис. 1 приведены данные анализа флавоноидов листьев по их распределению на Б/Х. В ряде случаев разные вещества расположены в одной области, но имеют разные окраски и при контрольном двумерном Б/Х отделяются друг от друга.

(№ 1) доминирует вещество с Rf 0,39, представляющее собой тригликозид кемпферола — робинин [20], а в *T. hybridum* (№ 3) — биоханин-A-7-глюкозид и формонетин, имеющие значение Rf соответственно 0,60 и 0,80 [18].

Секция *Micrantheum*, представленная одним видом *T. retusum* (№ 4), по флавоноидному составу приближается к предыдущей секции, но содержит меньшее число веществ. Для секции *Chronosemium* (№ 5, 6, 7, 8) характерным являются пятна с Rf 0,18; 0,30; 0,33; 0,48 и 0,80. Из *T. spadicum* (№ 6) нами изолировано вещество с Rf 0,40 — цинарозид (лютеолин-7-глюкозид) [18], не обнаруженное при двумерной Б/Х в других представителях этой секции. Цинарозид, кроме того, обнаружен и изолирован нами из видов секции *Trifolium* ряда *Ochroleuca* (№ 13, 14, 15). Вещество со значением Rf 0,55, содержащееся во всех четырех

видах данной секции, выделено нами из *T. spadicum* (№ 6) и оказалось рутинном [18].

Все исследуемые виды секции *Galearia* (№ 9, 10, 11, 12) содержат флавоноиды с  $R_f$  0,15; 0,50; 0,60; 0,63; 0,80. *T. fragiferum* (№ 9) и *T. bonanii* (№ 10)—представители ряда *Fragifera*—имеют почти идентичный флавоноидный состав. Это обстоятельство согласуется с их морфологической близостью [1]. Из данных видов мы выделили доминирующие флавоноиды изокверцетин ( $R_f$  0,50) и формонетин ( $R_f$  0,80) [18].

Секция *Trifolium* была представлена 18 видами, относящимися к 13 рядам. Нами изучены все три растения ряда *Ochroleuca*—*T. trichocephalum* (№ 13), *T. caucasicum* (№ 14), *T. canescens* (№ 15) и установлен их почти идентичный флавоноидный состав. Из них выделен лютеолин и его производные [9, 22]. Из *T. trichocephalum* дополнительно нами изолирован дракоцефалозид (лютеолин-3'- $\beta$ -глюкозид) с  $R_f$  0,28. Это вещество обнаружено и в двух других видах (№ 14, 15) данного ряда [22]. Последующие два ряда секции *Trifolium* во флоре СССР представлены только по одному виду. При изучении флавоноидного состава *T. echinatum* (№ 16) и *T. angustifolium* мы также обнаружили лютеолин ( $R_f$  0,78) и его глюкозид цинарозид ( $R_f$  0,40). Следует подчеркнуть, что производные лютеолина в основном накапливаются в представителях ряда *Ochroleuca* (№ 13, 14, 15), *Echinata* (№ 16) и *Angustifolia* (№ 17), ранее объединенные в секции *Stenostoma* [3]. Производные лютеолина не обнаруживаются в рассматриваемых нами других видах секции *Trifolium*, за исключением *T. areratum* [8].

Мы проанализировали все три вида ряда *Pratensia*, произрастающие в Грузии—*T. pratense* (№ 24), *T. fontanum* (№ 25), *T. diffusum* (№ 26). Установить какой-нибудь характерный признак для данного ряда по флавоноидному составу не представилось возможным. Наши дан-

ные химического анализа не подтверждают высказанное по морфологическим признакам предположение относительно идентичности *T. pratense* (№ 24) и *T. fontanum* (№ 25) [1]. *T. pratense*—хорошо изученное растение, из него выделено до 20 флавоноидов [8]. Как видно из рис. 1, этот вид, произрастающий на территории СССР, менее богат флавоноидами. *T. hirtum* (№ 28) и *T. Lappaceum* (№ 29) из ряда *Lappaceae* содержат 6 одинаковых пятен и таким образом имеют более близкий состав. *T. argense* (№ 30) является единственным представителем ряда *Argensia* во флоре Грузии. Из него мы выделили основной компонент суммы флавоноидов гиперин ( $R_f$  0,58) [23].

Цветки клеверов также представлены сложным составом флавоноидов. Родовым признаком можно считать наличие веществ с  $R_f$  0,23 и 0,60. В некоторых случаях отмечается сходство флавоноидного состава цветков с листьями.

В секции *Amoria* (№ 1, 2, 3) показано наличие веществ с  $R_f$  0,32 и 0,50. В цветках представителей секции *Galearia*, на примере ряда *Fragifera*, *T. fragiferum* (№ 9) и *T. bonanii* (№ 10) нет полной аналогии состава флавоноидов, как это отмечается в случае листьев, однако и здесь наблюдается их большая близость, выраженная в присутствии 7 одинаковых веществ ( $R_f$  0,13; 0,28; 0,33; 0,49; 0,52; 0,60; 0,85).

Обращает на себя внимание полностью идентичный химический состав цветков *T. tumens* (№ 11) и *T. resupinatum* (№ 12)—представителей разных рядов, тогда как химический состав листьев этих видов резко отличается друг от друга.

Для цветков секции *Trifolium* характерным признаком можно считать вещество с  $R_f$  0,06. Также как листья, цветки клеверов секции *Trifolium* ряда *Ochroleuca*—*T. trichocephalum* (13), *T. caucasicum* (№ 14) и *T. canescens* (№ 15) имеют одинаковый флавоноидный состав, отличие отмечено лишь в содержании пятен с  $R_f$  0,55 в № 14, 0,53 в



№ 15 и отсутствием веществ с Rf 0,83 в № 14.

Считаем нужным отметить большое сходство состава флавоноидов цветков, как и в случае листьев, двух видов ряда *pratensis* — *T. pratense* (№ 24) и *T. fontanum* (№ 25), в отличие от третьего вида *T. diffusum* (№ 26). По этим данным *T. pratense* (№ 24) и *T. fontanum* (№ 25) значительно приближаются к представителям ряда *Alexandrina* — *T. apertum* (№ 27) и ряда *Lappaceae* — *T. hirtum* (№ 28) и *T. lappaceum* (№ 29).

Мы, рассмотрим состав флавоноидных агликонов лишь целого растения. Как видно из рис. 2, в клеверах в большинстве случаев накапливаются флавоноиды — производные флаво-агликонов кверцетина и кемпферола и изофлаво-агликонов формонетина и биоханина А. В четырех видах секции *Trifolium* — *T. pratense* (№ 24), *T. diffusum* (№ 26), *T. hirtum* (№ 28), *T. lappaceum* (№ 29) обнаружены изорамнетин, чем, по всей вероятности, обусловлен близкий состав флавоноидов отдельных частей этих видов. Как это уже было

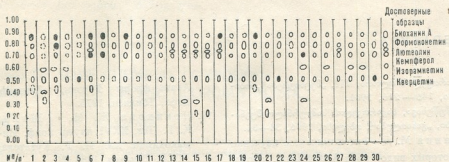


Рис. 2. Схема Б/Х агликонов надземных частей клеверов флоры Грузии. Система: бутанол — уксусная кислота — вода (4:1:5)

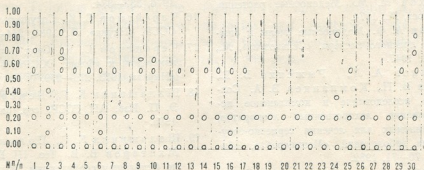


Рис. 3. Схема ТСХ изопреноидов клеверов флоры Грузии. Система: Хлороформ — метанол (10:1)

Стебли изученных нами клеверов, по сравнению с другими родами сем. бобовых, отличаются более сложным составом флавоноидов. Почти во всех видах проявляются вещества со значением Rf 0,50; 0,70; 0,88.

Так как после проведения гидролиза экстрактов отдельных органов клеверов мы получили одинаковые аглико-

отмечено при сравнительном анализе листьев и цветков, производные лютелина накапливаются в основном в рядах *Ochroleuca* (№ 13, 14, 15), *Echinata* (№ 16), *Angustifolia* (№ 17) секции *Trifolium*. Из других видов лютеолин обнаружен только в *T. spadicum* (№ 6),

ряд *Badia*, и в *T. apertum* (№ 27), ряд *Alexandria*, что было доказано и при Б/Х флавоноидных агликонов рода клевера.

Как и в роде клевер, апигениновые флавоноиды не найдены в видах флоры Грузии.

Во всех видах клеверов мы обнаружили изопреноиды (рис. 3). В используемой нами системе при всех случаях на старте проявляются гликозиды изопреноидов и агликоны со значением  $R_f$  0,21.

Кумарины в небольшом количестве представлены в некоторых исследуе-

мых нами видах клеверов. Аминокислотный состав всех изучаемых видов почти одинаков. Обращает на себя внимание содержание во всех видах, за исключением *T. retusum* (№ 4) и *T. apertum* (№ 27), сравнительно редковстречающейся аминокислоты — пролина.

Полученные в Институте фармакохимии АН ГССР данные показывают, что по изучению известных кормовых растений сем. бобовых наибольшее число аминокислот содержится в видах *Onobrychis* [12], затем *Astragalus* [3] и *Trifolium*.

## ЛИТЕРАТУРА

1. საქართველოს ფლორა, VII, „მეცნიერება“, თბილისი, 145—216, 1981.
2. Б. შუჭუნაძე, საქართველოს სამკურნალო მცენარეები, „განათლება“, თბილისი, 1966, 34—35.
3. Алания М. Д. Фитохимическое изучение некоторых видов рода *Astragalus* L., произрастающих в Грузии, Автореф. канд. дисс., Харьков, 1974.
4. Бобров Е. Г. Флора и систематика высших растений, Изд-во АН СССР, М.—Л., 1947.
5. Глухов М. М. Медоносные растения, «Колос», М., 1974.
6. Губин А. Ф. Медоносные пчелы и опыление красного клевера. «Сельхозгиз», М., 1—48, 1947.
7. Казаков А. Л., Рыженко В. Е., Хиля В. П., Компанцев В. А. Создание, исследование и комплексное использование лекарственных препаратов, применяемых для лечения сердечно-сосудистых заболеваний, «Мецинерба», Тбилиси, 70—71, 1982.
8. Казаков А. Л., Джумырко С. Ф., Растительные ресурсы, X, 3, 344—355, 1979.
9. Казаков А. Л., Шинкаренко А. Л., Оганесян Э. Т. Химия природных соединений, 5, 673, 1972.
10. Ковалева Н. Г. Лечение растениями, «Медицина», М., 134, 1971.
11. Мацку Я., Крейча И. Атлас лекарственных растений, «Веда», Изд-во Словацкой Академии наук, Прага, 1981.
12. Моннава И. И. Фитохимическое исследование представителей рода *Onobrychis* Adans флоры Грузии, Автореф. канд. дисс., Тбилиси, 1975.
13. Новикова Ж. Н., Шалашвили К. Г. Тез. XXVI науч. конф. Ин-та фармакохимии им. И. Г. Кутателадзе АН ГССР, Тбилиси, 1983, 35.
14. Смарагдова Н. П. Клевер и пчелы в нечерноземной полосе, МГУ, 1969.
15. Хенниг А. Минеральные вещества, витамины, биостимуляторы в кормлении сельскохозяйственных животных, «Колос», М., 1976, 337—374.
16. Черепанов С. К. Сосудистые растения СССР, «Наука», Л., 1981, 244—246.
17. Черепанов С. К. Свод дополнений и изменений к «Флоре СССР», I—XXX, Л., «Наука», 1973, 276—279.
18. Шалашвили К. Г., Кемертелидзе Э. П. Изв. АН ГССР, сер. биол., II, 6, 1985.
19. Шалашвили К. Г., Польшин В. В., Мхитаров В. В. Тез. III Всес. симп. по фенольным соединениям, Тбилиси, 1976, 165.
20. Шалашвили К. Г., Кемертелидзе Э. П. Тез. III Всес. симп. по фенольным соединениям, Тбилиси, 1976, 129.
21. Шалашвили К. Г. Мат. II Груз. респ. конф. молодых химиков, Тбилиси—Кутаиси, 1978, 119.
22. Шалашвили К. Г., Кемертелидзе Э. П. Химия природных соединений, 653, 5, 1975.
23. Шалашвили К. Г. Химия природных соединений, 5, 655, 1975.

ზოგიერთი ძვირფასი ნაერთების გავრცელება  
საქართველოს ფლორის სამუშაოს *Trifolium L.* გვარში



ბ. შალაშვილი, მ. ალანია

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

რეზიუმე

შატარდა საქართველოში მოზარდი სამყურის 30 სახეობის მიწისზედა ნაწილებისა და ცალკეული ორგანოების გამოკვლევა. ფლავონოიდური გლიკოზიდების და აგლიკონების, ამინომჟავების, კუმარინების და იზოპრენოიდების შემცველობაზე.

გამოირკვა, რომ სამყურას გვარის მცენარეებში გვხვდება კვერცეტინის, კემფეროლის, ფორმონონეტინისა და ბიოხანი-ნის წარმოებულები, 9 ამინომჟავა და იზოპრენოიდები.

SPREADING OF SOME CHEMICAL COMPOUNDS  
IN *Trifolium L.* GENUS OF THE GEORGIAN FLORA

K. G. SHALASHVILI, M. D. ALANIA

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

S u m m a r y

The hemotaxonomic studies of 30 species of clover-*Trifolium* grown on the territory of the Georgian republic have been carried out. Flavonoid glycosides and their aglycons, amino acids, cumarines and isoprenoids are chosen as hemotaxonomic features.

The derivatives of quercetin, kaempferol, formononetin and biochanin A, 9 amino acids and isoprenoids are shown to be the characteristic taxonomic features of the genus.

УДК 575.576.8

ГЕНЕТИКА

## К ИЗУЧЕНИЮ ФОРМООБРАЗОВАТЕЛЬНОГО ПРОЦЕССА В ГИБРИДНЫХ ПОПУЛЯЦИЯХ ТЕТРАПЛОИДНЫХ ПШЕНИЦ

К. М. Жижилашвили, А. Д. Горгидзе

Институт ботаники им. Н. Н. Кецохели АН ГССР, Тбилиси

Поступила в редакцию 04.05.1984

Попутно с изучением филогенетики исфаханской пшеницы *Triticum isphanicum* Heslot рассматривается формообразовательный процесс в гибридных популяциях тетраплоидных пшениц.

Полученные от скрещиваний исфаханской пшеницы с Челта Зандури биотипы подтверждают известное в литературе мнение об обособленном положении Челта Зандури в роде *Triticum* L. Последнее указывает на моногенный состав этой популяции и на ее происхождение путем автополиплоидии. Нами установлено, что гибридогенный процесс в скрещиваниях между видами грузинских реликтовых эндемов пшеницы с исфаханской пшеницей протекает различно. Особую генетическую особенность исфаханская пшеница проявляет с колхидской и обыкновенной полбами.

Проблема формообразования интенсивно изучается генетиками и селекционерами во многих странах мира [2, 3, 4, 5]. При изучении закономерностей формообразования широко используется гибридизация — как близкородственная, так и отдаленная. Вопрос о межвидовом скрещивании рассматривался еще в трудах Камерариуса, однако настоящая история межвидовой гибридизации начинается с 1760 года, когда Кельрейтер опубликовал свой первый труд, касающийся пола растений. На основе многочисленных примеров, наблюдений и опытов Ч. Дарвин пришел к выводу о возможности межвидовых скрещиваний и привел в своих трудах многие случаи образования при этом весьма ценных форм.

При филогенетическом изучении исфаханской пшеницы — *Triticum isphanicum* Heslot нами замечены интересные явления формообразования у межвидовых гибридов с ее участием. Приводим интересные в этом аспекте скрещивания:

1. Исфаханская пшеница X Челта Зандури

Растения первого гибридного поколения от скрещивания исфаханской пшеницы — *T. isphanicum* Heslot и Челта Зандури — *T. timopheevi* v. *typicum* Zhuk. промежуточны между родительскими формами. У этих гибридов хорошо выражены признаки как исфаханской пшеницы (удлиненная колосковая чешуя, одноостность), так и признаки Челта Зандури (опушение листьев и колосьев, ломкость колоса).

Формообразовательный процесс начинается со второго поколения, с выявлением хорошо отличающихся друг от друга биотипов. Для одной группы гибридов ( $F_2$ ) с момента прорастания характерны замедленный рост и развитие. Депрессивный характер развития приводит к запаздыванию прохождения отдельных фаз развития, а уже с фазы кушения наблюдается распад хлорофилла. Процесс этот начинается с кончиков листьев нижнего яруса и направляется к их основанию, наконец — весь лист желтеет, сохнет и гибнет. Эти гибриды, в основном, не достигают фазы генеративного развития и погибают на стадии вегетатив-



ного роста. Лишь некоторые из них завершают полный цикл развития, но остаются или абсолютно стерильными, или же являются, очень низкофертильными.

Вторая группа гибридов до кущения развивалась нормально, но растения имели кустообразную форму с мелкими игольчатыми, темно-зелеными листьями. На данной фазе развития они оставались до конца жизни гибриды лишь поздно осенью.

В третьем гибридном поколении получены единичные растения — которые по фенотипическим признакам однородны и напоминают недифференци-

поэтому во втором поколении получено очень малое количество гибридов. Растения второго гибридного поколения (рис. 1-F<sub>2</sub>) по наиболее важным видовым признакам пшеницы можно сгруппировать следующим образом:

1. Растения типа *T. dicoccoides*, среди которых имеются биотипы как с черными колосьями и укороченной чешуей, так и с черными колосьями, но с удлиненной колосковой чешуей.

2. Тип *T. dicoccum* — красноколосый и белоколосый.

3. Тип *T. ispahanicum* — как черноколосый с длинными остями, так и красноколосый — двуостый и одноостый.

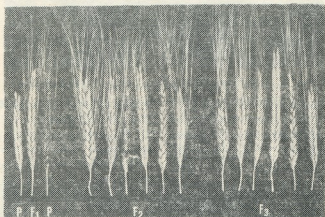


Рис. 1. *Triticum ispahanicum* × *Triticum dicoccoides*

рованный тип — *T. dicoccum* v. *Schübl.* В цветках у этих гибридов пыльники недоразвиты. Очевидно, неполноценны и женские гаметы, из-за чего растения остаются абсолютно стерильными.

Слабая жизненность и стерильность гибридов от скрещивания исфаханской пшеницы и Челта Зандури подтверждают генетическую несовместимость названных видов.

II. Исфаханская пшеница × дикая двузернянка.

Первое поколение гибридов от скрещивания исфаханской пшеницы и дикой полбы — *T. dicoccoides* v. *spontaneo* — *pigrum* Flaksb. промежуточного типа (рис. 1, F<sub>1</sub>). Гибриды без отклонений от нормы проходят все фазы вегетативного и генеративного развития. Лишь в фазе цветения замечено, что гибриды цветут открыто и пыльники в цветках слабо развиты. Растения данного поколения низкофертильные,

В третьем гибридном поколении (рис. 1, F<sub>3</sub>) формообразование в основном протекает преимущественно с выявлением форм материнского растения (исфаханская пшеница). Сравнительно меньше было гибридов отцовского (дикая полба) и промежуточного типов, а также типа *T. dicoccum*.

III. Исфаханская пшеница × древняя колхидская полба.

Развитие растений первого гибридного поколения от скрещивания исфаханской пшеницы с древней колхидской полбой — *T. palaeocolchicum* Men v. *chvamlicum* Supat., так же как и их скрещивание, происходит как это свойственно для генетически близких видов. Гибридные растения гетерозисного типа. По архитектуре колосков у гибридов первого поколения (рис. 2, F<sub>1</sub>) выражены признаки как исфаханской пшеницы (одноостность, удлиненная колосковая чешуя), так и колхидской полбы (плоский колос,

многоколосковость, пленчатость, трудный обмолот). В  $F_2$  (рис. 2,  $F_2$ ) наряду с материнскими и отцовскими биотипами выщепились также промежу-

катные и инфлятные биотипы типа колхидской полбы. Все биотипы высокофертильны. Некоторые из них, как например безостые биотипы типа колхидской

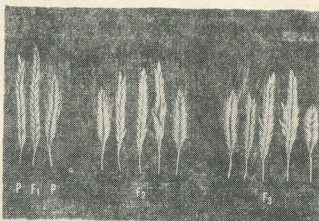


Рис. 2. *Triticum ispahanicum* × *Triticum palaeochicum*

точные биотипы — *ispahanicum* — *palaeocolchicum*, биотипы типа — *duro* — *dicoccum* и *aestivum* — *dicoccum*. Однако биотипы с признаками *T. durum* Desf. и *T. aestivum* L. оказались почти стерильными.

полбы, не лишены практического интереса для селекции.

IV. Исфahanская пшеница × культурная полба.

Скрещивание между исфahanской пшеницей и культурной полбой — *T. dicoccum* v. *fagrum* Bayle. протекает

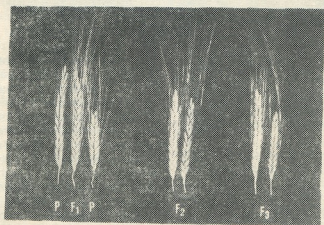


Рис. 3. *Triticum ispahanicum* × *Triticum dicoccum*

Дивергенция биотипов третьего гибридного поколения (рис. 2,  $F_3$ ) по фенотипическим признакам дает следующую картину:

1. биотипы типа *T. ispahanicum*; 2. биотипы типа *T. ispahanicum*, в которых в той или иной степени представлены признаки полбы; 3. биотипы типа *dicoccum* — *ispahanicum*; 4. биотипы типа колхидской полбы и 5. безостые фу-

успешно. Гибриды первого поколения промежуточного типа (рис. 3,  $F_1$ ). В развитии фенотипических и генотипических признаков у этих гибридов проявляется гетерозис.

Во втором гибридном поколении формообразовательный процесс проходит в рамках скрещиваемых пар, с выявлением высокофертильных биотипов типа исфahanской пшеницы и культурной полбы (рис. 3,  $F_2$ ). Расте-

ния третьего гибридного поколения (рис. 3, F<sub>3</sub>) типа исфаханской пшеницы, или же типа полбы, среди которых были описаны *dicossum* с признаками исфаханской пшеницы, *dicossum* черноостый, *dicossum* одноостый, *di-*

лены как биотипы типа *T. polonicum*. Эти биотипы в последующих гибридных поколениях оказались константными.

При подборе соответствующих пар удалось синтезировать растения типа

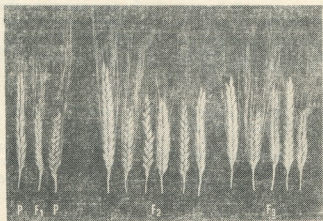


Рис. 4. *Triticum ispahanicum* × *Triticum durum*

сосисом с опушенными колосьями и др. Все биотипы высокофертильны и вызывают определенный интерес с точки зрения практической селекции. V. Исфаханская пшеница × тавтухи.

*T. polonicum*. Возникновение растений типа *T. polonicum* в подобных скрещиваниях не случайного характера. Такие гибриды мы получали неоднократно [1].

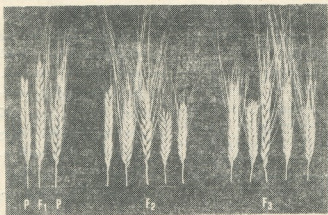


Рис. 5. *Triticum ispahanicum* × *Triticum carthlicum*

Растения от скрещивания исфаханской пшеницы и тавтухи — *T. durum* v. *aralicum* Kõgn. также промежуточного типа (рис. 4, F<sub>1</sub>), высококофертильны и гетерозисны.

Во втором гибридном поколении формообразовательный процесс характеризуется широким диапазоном (рис. 4, F<sub>2</sub>), где наряду с биотипами типа родительских форм, имеет место проявление совершенно новых форм, которые по архитектуре колоса опреде-

I. Исфаханская пшеница × пшеница Дика.

Гибридные растения первого поколения от скрещивания исфаханской пшеницы с пшеницей Дика — *T. carthlicum* v. *stramineum* Zhuk. по основным морфологическим признакам колоса промежуточные (рис. 5, F<sub>1</sub>), высококофертильные и гетерозисные.

Анализ второго гибридного поколения дает основание сгруппировать их следующим образом (рис. 5, F<sub>2</sub>):

1. биотипы типа исфаханской пшеницы;
2. биотипы типа Дика;
3. биотипы типа *carthlicum* — *aestivum*
4. биотипы типа *ispahanicum* — *carthlicum*
5. биотипы типа *dicossum*

В  $F_3$  (рис. 5,  $F_3$ ) формообразовательный процесс характеризуется выявлением почти тех же биотипов, что во

втором гибридном поколении. Привлекают внимание двуостые высокофертильные, легкообмолачиваемые биотипы типа исфаханской пшеницы, которые могут быть использованы в селекционных работах.

В результате нашего исследования выявились генетические взаимоотношения исфаханской пшеницы с тетраплоидными представителями рода *Triticum* L.

#### ЛИТЕРАТУРА

1. Горгидзе А. Д., Жижилашвили К. М. Сообщения АН ГССР, 109, 381—383, 1983.
2. Ерицян А. А. Тр. ин-та ботаники, 11 135—138, 1989.
3. Зарубайло Т. Я. Тр. по прикл. ботанике, 33, 1958, 114—119.
4. Костов Д. Изв. АН СССР, сер. биол., 111, 12—18, 1938.
5. Мак-Кей Д. Сельскохозяйственная биология, 111, 18—22, 1968.
6. Менабде В. Л. Сообщения АН ГССР, 62, 413—415, 1971.

### ფორმათა წარმოქმნის პროცესების შესწავლისათვის ტეტრაპლოიდური ხორბლების ჰიბრიდულ პოპულაციებში

ა. შიჟილაშვილი, ა. გორგიძე

საქართველოს სსრ მეცნიერებათა აკადემიის ნ. კეცხოველის სახელობის ბოტანიკის ინსტიტუტი, თბილისი

საქართველოს სასოფლო-სამეურნეო ინსტიტუტი, თბილისი

#### რ ე ზ ი უ მ ე

ჩვენი კვლევის შედეგები შეიძლება შემდეგნაირად შეჯამდეს:

ექსპერიმენტულად კიდევ ერთხელ დადასტურდა ლიტერატურაში უკვე ცნობილი მოსაზრება *Triticum* L-ის გვარში ზანდურის პოპულაციის განკერძოებულობის შესახებ, რაზედაც მიგვაწინშეებს ამ პოპულაციის მონოგენურობა და მისი ავტოპოლიპლოიდის გზით წარმოშობა.

ისპაჰანის ხორბალი კარგად ეჯვარება ტეტრაპლოიდური ხორბლის ჯგუფის თითქმის ყველა სახეობას. შესაძლებელი ხდება მაღალფერტილური ჰიბრიდული თაობის მიღება. იგი გენეტიკურად განსაკუთრებით ახლოა ძველ კოლხურ და ჩვეულებრივ ასლებთან, და ამის გამო მიზანშეწონილად მიგვაჩნია ისპაჰანის ხორბალი ასლების ჯგუფს მიეკუთვნოთ.

### ON THE STUDY OF THE FORMMAKING PROCESS OF THE TETRAPLOID WHEATS HYBRID POPULATIONS

K. M. ZHIZHILASHVILI, A. D. GORGIDZE

N. N. Ketskhoveli Institute of Botany, Georgian Academy of Sciences, Tbilisi, USSR

Georgian Institute of Agricultur, Tbilisi, USSR

#### S u m m a r y

The results of our studies can be summarized in the following way.

Our experimental data confirm known in the literature opinion of the Zanduri

isolated position in the genus *Triticum*, testifying to the monogenic structure of this population and its origin by way of autopolyploidy.



702 750101035

The ispananic wheat interbreeds well with the representatives of the tetraploid wheats group (T. palaeo-colchicum, T. dicoccum, T. durum, T. carthlicum) and highfertil hybrid posterity is obtained.

It shows Special genetical proximity with colchicum and common millets.

Interesting from the poind of view of the possible ways of origin of some now

existing species wheat forms must be count hybrids of ispananic wheat with various representatives of the genus Triticum, obtained in the process of splitting, namely, the appearance of the biotypes of T. polonicum in the hybrid generations of crossing with T. durum. By this, we confirmed the hypothesis of the hybrid T. polonicum origin.

УДК 577.3

БИОФИЗИКА

## ИССЛЕДОВАНИЕ КОНФОРМАЦИОННОГО СОСТОЯНИЯ ГЕМОГЛОБИНА В ПРИСУТСТВИИ ДОДЕЦИЛСУЛЬФАТА НАТРИЯ МЕТОДОМ ВОДОРОДНОГО ОБМЕНА ( $^1\text{H}$ — $^2\text{H}$ )

К. Ш. Джинория

*Институт биохимии растений АН Грузинской ССР, Тбилиси  
Институт молекулярной биологии АН СССР, Москва*

Поступила в редакцию 17.01.1984

С помощью метода водородного обмена ( $^1\text{H}$ — $^2\text{H}$ ) исследовано конформационное состояние кислотно денатурированных гемоглобина (Hb), глобина,  $\alpha$ - и  $\beta$ -субъединиц Hb в присутствии додецилсульфата натрия (ДДС). При сравнении экспериментальных данных с теоретически посчитанными кинетическими кривыми и с формулой, выведенной на их основании, показано, что в этих условиях в молекуле Hb сохраняются структурированные участки, содержание и стабильность которых зависят от pH и наличия ДДС.

При добавлении ДДС к полиизо-пропилакриламиду значение pH, при котором водородный обмен (ВО) протекает с минимальной скоростью ( $\text{pH}_{\text{мин}}$ ), смещается на 1,5 единиц в щелочную область [7], что является следствием увеличения эффективности кислотного катализа реакции ВО и уменьшения эффективности щелочного. Помимо этого, известно, что у белков в присутствии ДДС может су-

ществовать и третичная структура [8, 9]. Поэтому представлялось интересным исследовать влияние добавления ДДС как к гемоглобину (Hb), денатурированному кислотой, так и к нативному белку. Оказалось, что добавление ДДС к препаратам Hb, денатурированным HCl при pH2, приводит к замедлению ВО, а при добавлении к нативным формам белка наблюдается сильное ускорение.

### МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ

Конформационное состояние Hb, глобина,  $\alpha$ - и  $\beta$ -цепей Hb, денатурированных кислотой в присутствии ДДС, исследовано с помощью метода ВО ( $^1\text{H}$ — $^2\text{H}$ ) на ИК спектрофотометре UR-10.

Методы получения нативных, а затем денатурированных форм HbO<sub>2</sub>, глобина,  $\alpha$ - и  $\beta$ -субъединиц приведены в работе [2]. В 5%-ные растворы этих белков, оттитрованные до pH4 1M HCl, добавляли ДДС так, чтобы окон-

чательная концентрация детергента составляла 4,5%. После этого раствор белка ставили на диализ против водного 4,5%-ного раствора ДДС и  $10^{-4}$  M ЭДТА, оттитрованного до нужного значения pH. pH раствора, против которого диализовался белок, постоянно контролировали и с помощью концентрированного HCl поддерживали нужное значение до тех пор, пока pH белка не достигал требуемой величины.

### РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

Скорость ВО в Hb, глобине,  $\alpha$ - и  $\beta$ -цепях в присутствии ДДС исследовали в интервалах pH 2,1—7,0 и 20—

40°C. Отношения интенсивностей пелос  $A_{\text{амид II}}/A_{\text{амид I}}$  для нейдетерированного белка в присутствии ДДС рас-

считали из кривых ВО при 20°C для рН 3,1 и 4,1, путем построения в полудугарифмических координатах, разложения их на составляющие и экстраполяции к нулевому времени. В результате при расчетах для  $A_{\text{амид II}}/A_{\text{амид I}}$

$i$  ( $\lg k_0 t$ ). Видно, что скорость ВО в Нб, денатурированном ДДС, уменьшается при увеличении рН от 2,1 до 4,0, а при увеличении рН до 7 — возрастает. Кинетика ВО в глобине,  $\alpha$ - и  $\beta$ -цепях в присутствии ДДС исследова-

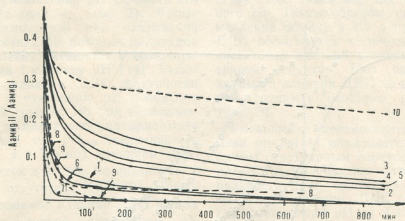


Рис. 1.  $^1\text{H}$ — $^2\text{H}$  обмен пептидных Н-атомов глобина в присутствии ДДС при 20°C, рН 2,1 (1) и Нб при рН 3(2), 4(3), 4,5(4), 5(5) в 0,05М цитратных буферах, 6(6), 7(7) в 0,05М фосфатных буферах—сплошные линии. Пунктир-кривые ВО пептидных Н-атомов Нб, денатурированных НСI при рН 4(8) и глобина при рН 2(9) в 0,05М цитратном буферах, а также нативного Нб при рН 5,1(10) в 0,05М цитратном буфере

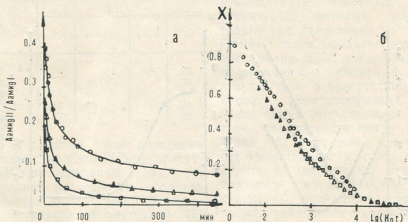


Рис. 2.  $^1\text{H}$ — $^2\text{H}$  обмен пептидных Н-атомов Нб в присутствии ДДС при рН5 в 0,05М цитратном буфере и 20°C(о), 30°C(Δ), 40°C(□); а—в координатах  $A_{\text{амид II}}/A_{\text{амид I}} = f(t)$ ; б—в координатах  $X = f(\lg k_0 t)$ ;  $k_0$  рассчитано по формуле (6) из работы [1]

окончательно приняли величину, равную 0,460.

На рис. 1 и 2а приведены кинетические кривые ВО в пептидных NH группах белков в присутствии ДДС, а на рис. 2б и 3 — в координатах  $X =$

на при рН 2,1, 3,1 и 4,1 и 20°C. Полученные кривые совпали с кривыми для Нб, денатурированного ДДС (рис. 1). Незначительные различия обнаружены в случае  $\alpha$ - и  $\beta$ -цепей при рН 4,1 и 20°C.

Такое поведение кинетических кривых НВ при добавлении ДДС объясняется двумя причинами. Благодаря отрицательно заряженной сульфогруппе молекулы ДДС, сорбированные на

белке, изменяют стабильность заряженных переходных состояний, с участием которых осуществляется реакция ВО в пептидной NH группе, доступной растворителю.

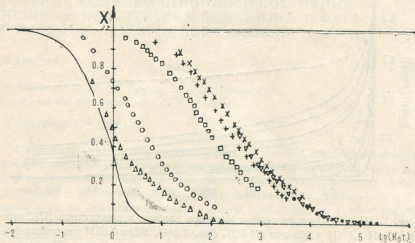


Рис. 3. Обобщенные кинетические кривые ВО пептидных Н-атомов глобина и НВ в присутствии ДДС при 20°C: глобин—рН 2,1(Δ), НВ—рН3(○), 4(□), 4,5(+), 5(×), 6(▽), 7(●)  $k_0$ —как на рис 2

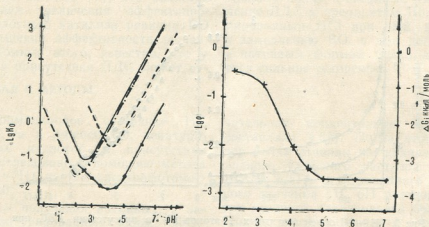


Рис. 4. Зависимость от рН константы скорости ВО в пептидных NH группах, доступных растворителю, рассчитанная по формуле (6) из работы [1] (—) и  $k_0=60(10^{-\text{pH}})^{-1,25}(10^{\text{pH}})^{-5,5} \cdot 10^{0,05(\text{pH}-25)}$  мин<sup>-1</sup> (— · —); смещение кривой, рассчитанной по формуле (6) с учетом закономерности, обнаруженной в присутствии ДДС (---) по данным работы [7]. Зависимость от рН усредненной экспериментально наблюдаемой константы скорости обмена  $k_0$  в НВ в присутствии 2 % ДДС (табл. 2:  $\lg \rho = \lg k_0 + \bar{\Sigma}$ )



В виду того, что в Нб в условиях доступности ВО протекает с минимальной скоростью при рН 2,6 (рис. 2б [1]), согласно вышесказанному, понятно почему в Нб в присутствии ДДС ВО протекает с минимальной скоростью при рН 4, а при увеличении или уменьшении рН скорость его возрастает (рис. 4; табл. 2). Кроме того, показано, что при связывании ДДС величина рК боковых радикалов нитротирозина смещается в щелочную область на 1 единицу рН [14]. Таким образом, влияние ДДС фактически сводится к изменению рК ионизации пептидной группы. Но при исследовании ВО в полиизопронилакриламиде обнаружено, что  $pH_{мин}$  увеличивается в 3 раза, а в Нб под влиянием ДДС уменьшается в 10 раз по сравнению с рН 2,6 в отсутствие ДДС [7]. Поэтому наблюдаемое влияние ДДС нельзя объяснить только изменением рК ионизации пептидной группы (рис. 4).

Таблица 1

Полуширины полосы амид I (в  $cm^{-1}$ ) для белков, денатурированных кислотой, в присутствии ДДС и нативного Нб (в скобках полуширина полос после прогревания образцов до 60—70°C и последующего охлаждения)

Белок	рН			°C
	2,1	4,1	9,0	
Гемоглобин			48	20
Гемоглобин	47	46 (47)		20
Глобин	47	46		20
$\alpha$ цепь	46	46		20
$\beta$ цепь	47	47		20

С другой стороны такое поведение кинетических кривых Нб в присутствии ДДС, по сравнению с ВО в условиях полной доступности, объясняется наличием компактной структуры в белке, маскирующей пептидные NH группы от контакта с растворителем. При высоких концентрациях, используемых в наших экспериментах, ДДС связывается с Нб, как и с другими белками, в соотношении  $1,4 \pm 0,2$  г ДДС на 1 г белка [3]. По данным дисперсии оптического вращения (ДОВ) содержание спиральных участков Нб в присутствии ДДС мало отличается от их содержания в нативном белке [4]. Тот факт, что кислотная денатурация Нб сопровождается

деспирализацией означает, что в присутствии ДДС у денатурированного белка восстанавливается спиральная конформация. На это указывает и уменьшение полуширины полосы амид I в присутствии ДДС (табл. 1). Полуширина полосы амид II в присутствии ДДС такая же, как и у нативного Нб. Таким образом, сильное замедление обмена в Нб в присутствии ДДС объясняется наличием в белке достаточно жесткой вторичной и третичной структур (без привлечения данных о влиянии ДДС на рК пептидной группы), особенно при рН 4 (рис. 3).

Уменьшение степени замедления обмена при рН 4 объясняется рН-зависимым структурным переходом в комплексе ДДС—белок. Степень спиральности ряда «неспиральных» белков в присутствии ДДС возрастает при уменьшении рН от 4,4 до 2,1 [5, 10], что может быть вызвано разрушением третичной структуры белка, которая до этого мешала образованию некоторых спиральных сегментов. Исходя из данных, полученных при исследовании цитохрома С, даже в присутствии такого сильного денатурирующего агента как гуанидинхлорид, в нейтральной области рН могут существовать некоторые элементы структуры, которые разрушаются только при закислении раствора [12]. Помимо этого, показано, что характер связывания ДДС с белком зависит и от наличия S—S связей [6, 9, 11]. Таким образом, в присутствии ДДС, как и других денатурирующих агентов, в белке могут существовать специфические дальнейшие взаимодействия. Их нарушение при изменении рН и восстановление связи может приводить к уменьшению степени компактности и жесткости третичной структуры, вследствие чего и происходит увеличение конформационной подвижности  $\alpha$ -спиральных сегментов, что и является, видимо, причиной резкого уменьшения степени замедления ВО при рН 4 в комплексе ДДС—Нб. Как показано на примере полипептидов в отсутствие взаимодействий между отдельными спирализованными молекулами, ВО замедляется в меньшей степени [13]. То есть, влияние ДДС на скорость ВО может быть объяснено, исходя из сохранения старой или образования новой вторичной и тре-

тичной структур, а также рН-зависимых конформационных перестроек.

Если при анализе кинетических кривых ВО в Нб в качестве «нулевой» использовать не кривую для PDLA, а расчетную, описываемую уравнением (7) в работе [1], то оцениваемая на основании экспериментальных данных степень замедления ВО в белке уменьшается в среднем в 3 раза, а средняя энергия локальных конформационных

условиях доступности с изменением температуры достаточно хорошо описывается температурным коэффициентом уравнения (7) в работе [1]. Различия между расчетными кривыми ВО в  $\alpha$ - и  $\beta$ -цепях составляют менее 0,04 единицы  $\lg k_{0t}$ , следовательно, изменения в скорости ВО в условиях полной доступности не могут приводить к заметным расхождениям в экспериментально наблюдаемой скорости ВО

Таблица 2

Отклонения от расчетной кривой экспериментальных обобщенных кривых ВО при различных значениях рН для Нб, денатурированного ДДС, в условиях полной доступности

X	pH	2,2 <sup>1</sup>	3,0 <sup>2</sup>	4,0 <sup>2</sup>	4,5 <sup>2</sup>	5,0 <sup>2</sup>	6,0 <sup>3</sup>	7,0 <sup>3</sup>
0,95			-0,75	-1,60	-1,97			
0,90			-0,50	-1,63	-2,00	-2,27		
0,80		-0,05	-0,50	-1,73	-2,13	-2,24		
0,70		-0,05	-0,50	-1,80	-2,16	-2,34		
0,60		-0,10	-0,60	-1,87	-2,30	-2,47		
0,50		-0,15	-0,70	-2,00	-2,40	-2,60		
0,40		-0,35	-0,80	-2,14	-2,57	-2,77	-2,60	
0,30		-0,65	-0,83	-2,40	-2,77	-3,04	-2,87	
0,20		-1,00	-1,20	-2,60	-3,07	-3,37	-3,27	-3,14
0,10		-1,25	-1,53			-3,60	-3,60	-3,48
0,05			-1,20				-3,80	-3,74
$\bar{\Sigma}$								
$\lg k_0$		-0,45	-0,72	-2,02	-2,43	-2,64	-2,64	-2,64
$\lg k_0 + \bar{\Sigma}$		-0,83	-0,91	0,03	0,53	1,03	2,03	3,03
		-1,28	-1,63	-1,99	-1,93	-1,61	-0,61	0,39

1  $\bar{\Sigma}$  — среднее от  $X \neq [0,1 - 0,8]$ ; 2  $\bar{\Sigma}$  — среднее от  $X = [0,2 - 0,9]$ ; 3  $\bar{\Sigma}$  — приравнено к среднему значению для рН5; 4  $k_0$  — посчитано по формуле (7) работы [1].

переходов увеличивается на 0,7 ккал/М (табл. 2).

Исследования влияния температуры на скорость ВО в денатурированных белках при 10 и 20°C (рН 1,2; 1,6), 20 и 30°C (рН 3,1) и в присутствии ДДС при 20, 30 и 40°C для рН5 показали, что изменение скорости ВО в

в изолированных нативных субъединицах. Помимо этого, судя по расчетным кривым ВО, ионизация Гис и карбоксильных групп также не должна оказывать заметного влияния на ВО в условиях доступности, т. е. на величину константы  $k_0$ .

#### ЛИТЕРАТУРА

- Джинория К. Ш. Изв. АН ГССР, сер. биол., 11, 3, 213—216, 1985.
- Джинория К. Ш. Изв. АН ГССР, сер. биол., 11, 6, 422—427, 1985.
- Bais R., Greenwell Ph., Wallace J. C., Keech D. B. FEBS Lett., 41, 53—57, 1974.
- Jirgensons B. J. Biol. Chem., 241, 4855—4860, 1966.
- Jirgensons B. BBA, 434, 58—68, 1976.
- Jones M. N. BBA, 491, 121—128, 1977.
- Klotz J. M., Mueller D. D. Biochem., 8, 12—16, 1969.
- Oakes J. J. Chem. Soc. Faraday Trans., 70, 2200—2209, 1974.
- Steinhardt J. In: Protein Ligand Interactions (Ed. Sund H., Blauer G., Walter de Gruyter) Berlin, New York, 1975, 412—426.

10. Su J. J. T., Jirgensons B. Arch. of Biochem. Biophys., 181, 137—146, 1977.
11. Toniolo C., Bonora G. M., Vita C., Fontana A. BBA, 532, 327—336, 1978.
12. Tsong T. J. J. Biochem., 14, 1542—1553, 1975.
13. Welch W. H. Jr., Fasman G. D. Biochemistry, 13, 2455—2466, 1974.
14. York J., Lyndal L., Roberts M. P. BBA, 371, 582—590, 1974.



ჰემოგლობინის კონფორმაციული მდგომარეობის შესწავლა ნატრიუმის დოდეცილ სულფატის დაამატებისას წყალბადის ჩანაცვლების მეთოდით ( $^1\text{H}$ — $^2\text{H}$ )

დ. ჯინორია

საქართველოს სსრ მეცნიერებათა აკადემიის გენერალ-ბიოქიმიის ინსტიტუტი, თბილისი

რ ე ზ ი უ მ ე

წყალბადის ჩანაცვლების მეთოდით ( $^1\text{H}$ — $^2\text{H}$ ) შესწავლილ იქნა მყავით დენატურირებული ჰემოგლობინის, გლობინის,  $\alpha$  და  $\beta$  სუბერთეულების კონფორმაციული მდგომარეობა ნატრიუმის დოდეცილ სულფატის დამატების შედეგად. ექსპერიმენტული მონაცემები შედარებულია თეორიულად დათვლილ კინეტიკურ

მრუდებთან და მათ საფუძველზე გამოყვანილ ფორმულასთან. გამოვლენილია, რომ ამ პირობებში ჰემოგლობინის მოლეკულაში შენარჩუნებულია სტრუქტურირებული უბნები, რომელთა რაოდენობა და სტაბილობა დამოკიდებულია pH-ზე და ნატრიუმის დოდეცილ სულფატის თანაარსებობაზე.

STUDY OF HEMOGLOBIN CONFORMATIONAL STATE IN THE PRESENCE OF SODIUM DODECYL SULFATE USING THE METHOD OF HYDROGEN EXCHANGE ( $^1\text{H}$ — $^2\text{H}$ )

K. Sh. JINORIA

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

S u m m a r y

By means of hydrogen exchange method ( $^1\text{H}$ — $^2\text{H}$ ) the influence of the presence of sodium dodecyl sulfate (SDS) in the acid denatured hemoglobin was studied.

Experimental data were compared with

theoretical kinetic curves and with formula, which were derived on the basis of them. In these conditions some structural parts were shown whose content and stability depended on pH and the presence of SDS.

УДК 547.96:612.744

БИОФИЗИКА

## ИССЛЕДОВАНИЕ ПЕРВИЧНОЙ СТРУКТУРЫ $\alpha$ -АКТИНИНА. ПЕПТИДЫ БРОМЦИАНОВОГО РАСЩЕПЛЕНИЯ, СОДЕРЖАЩИЕ ЭКСПОНИРОВАННЫЕ SH-ГРУППЫ

М. Ш. Симонидзе, К. Ш. Куридзе, Н. Ш. Надирашвили,  
Ф. О. Шрайбман

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

Поступила в редакцию 25.06.1984

Проведено бромциановое расщепление  $\alpha$ -актинина, карбоксиметилированного меченым йодацетамидом. Из гидролизата выделены меченые пептиды (т. е. пептиды, содержащие экспонированные SH-группы) и разделены с помощью ковалентной хроматографии на тиол-активированной сефарозе 4В, гельфильтрации на сефадексах и электрофореза в ПААГ.

Белок  $\alpha$ -актинин был выделен Эбашии и сотр. [4], как белковый фактор, который увеличивал суперпреципитацию и АТФазную активность реконструированного актомиозина. К настоящему времени  $\alpha$ -актинин обнаружен во всех двигательных системах, в том числе выделен из мозга крупного рогатого скота [13], асцитных мембран [9], кровяных тромбоцитов [12]. Такое широкое распространение  $\alpha$ -актинина в различных органах и тканях указывает на его важную роль. Предполагают, что  $\alpha$ -актинин может осуществлять, по крайней мере, три функции: а) вызывать агрегацию актиновых мономеров и тем самым участвовать в регуляции соотношения агрегированного и мономерного актина в клетках [8, 11]; б) служить в качестве присоединяющей пластинки или организующего центра для преформированных актиновых филаментов, проявляя специфичность в связывании с актиновыми филаментами [6, 15]; в) модифицировать структуру актиновых мономеров в случае, когда эти момеры находятся в агрегированном, филаментном состоянии [14]. Эта модификация может повышать эффективность актина в процессе сокращения. Для детального изучения физико-химических основ функционирования мионного белка  $\alpha$ -актинина необходимо

исследование его структурно-функциональных свойств, структурной организации, расположения активных участков, функциональной роли отдельных аминокислотных остатков и др.

Ранее нами было показано [1, 2], что молекула  $\alpha$ -актинина из скелетных мышц кролика (мол. масса 200 кД) содержит 16 сульфгидрильных групп, шесть из которых обнаруживаются в нативном белке, т. е. являются экспонированными. Нами было показано также, что наличие свободных экспонированных SH-групп существенно для проявления биологической активности белка.

Данная работа посвящена выделению и изучению пептидов с экспонированными SH-группами бромцианового расщепления  $\alpha$ -актинина. Бромциановое расщепление является одним из самых селективных и количественных методов деградации белков, в результате которого, в зависимости от содержания метионина, получают более или менее крупные пептиды. Исследование локализации экспонированных SH-групп в полученных пептидах дало бы возможность судить об их распределении в субъединицах  $\alpha$ -актинина.

Расщепление  $\alpha$ -актинина бромцианом проводили в 70%-ной муравьиной кислоте [3]. Для выделения из гидро-



лизата пептидов с экспонированными SH-группами использовали методику, предложенную в работе [5], которая включает высокоселективную ковалентную хроматографию на тиол-активированной сефарозе 4В. Электрофорез в полиакриламидном геле в присутствии додецилсульфата натрия (ДСН) проводили в градиенте концентрации полиакриламида 9—25% по методу Леммли [10]. Аминокислотный состав определяли на аминокислотном анализаторе LKB-3203 (Швеция). Гидролиз белка проводили в 5,6 н HCl в вакуумированных ампулах, в термостате при 105°; N-концевые аминокислоты определяли данильным методом с идентификацией ДНС-аминокислот двумерной тонкослойной хроматографией на пластинках с силикагелем [7].

Модификация SH-групп йодацетамидом и расщепление  $\alpha$ -актинаина бромцианом проводили следующим образом: к 150 мг белка в растворе 0,2 М трис-HCl, 2 мМ ЭДТА, pH 8,5 мМ добавляли меченый йодацетамид;

ры в 70%-ном HCOOH и добавляли 10-кратный избыток бромциана по отношению содержания метионина. После окончания реакции защиту с «внутренних» SH-групп снимали с помощью  $\beta$ -меркаптоэтанола и смесь пептидов наносили на колонку с активированной тиол-сефарозой (колонка 2×10, 50 мМ трис-HCl, 5 мМ ЭДТА, pH 8,0), предварительно обессолив на сефадексе G-25. Пептиды, содержащие «внутренние» SH-группы, образуют ковалентную связь с сефарозой и задерживаются на колонке, а пептиды с карбоксиметилированными SH-группами вместе с другими пептидами проходят через колонку.

Полученный элюат с целью обессоливания пропускали через колонку (1×85 см) с сефадексом G-25 (грубый), при этом происходило разделение пептидного материала (рис. 1). Оказалось, что вся радиоактивная метка находится, в основном, в первом пике (CB-1), градиентный электрофорез которого показал наличие нескольких полос с молекулярными массами

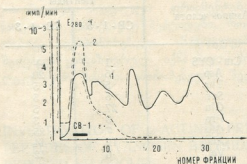


Рис. 1. Гельфильтрация продуктов бромцианового расщепления  $\alpha$ -актинаина, карбоксиметилированного меченым йодацетамидом по экспонированным SH-группам на колонке (1,5×85 см) с сефадексом G-25 (грубый): 1 — поглощение на 280 мкм; 2 — радиоактивность

смесь инкубировали в течение 30 мин при перемешивании и обессоливали на колонке с сефадексом G-25 в 0,2 М трис-HCl, 2 мМ ЭДТА, pH 8,0. Затем добавлением мочевины (до 8 М) раскрывали глобулу белка и блокировали «внутренние» SH-группы реактивом Эллмана — ДТНБ. Модифицированный по всем SH-группам  $\alpha$ -актинин обессоливали на колонке G-25 и лиофилизировали. Сухой остаток раство-

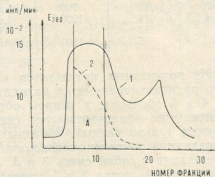


Рис. 2. Рехроматография фракции CB-1 на колонке (1×85) с сефадексом G-25 (суперфайн): 1 — поглощение на 280 мкм; 2 — радиоактивность; А — фракция, содержащая радиоактивные пептиды

5—25 кД. Пептидный материал (CB-1) рехроматографировали на колонке (1×85 см) с сефадексом G-25 (суперфайн) (рис. 2). Радиоактивные пептиды оказались во фракции А, электрофореграмма которой показывает, что пик CB-1 после рехроматографии освобождается от низкомолекулярных пептидов, но радиоактивный материал не разделяется; фракция А содержит пять пептидов, молекулярные массы

которых достаточно близки (14—23 кД). Для обнаружения и разделения меченых пептидов провели полупрепаративный электрофорез сконцентрированного пептидного материала (фракция А) в полиакриламидном геле в грубках размером 1×10 см. Из акриламидных стержней вырезали тонкие слои и пептиды экстрагировали раствором 0,05 М  $\text{H}_4\text{HCO}_3$ , 0,05% ДСН. Затем проводили повторный электрофорез, измерение радиоактивности и определение N-концевых аминокислот экстрагированного материала. Фореграммы приведены на рис. 3, а распределение радиоактивности в пептидах в табл. 1.

Таблица 1

Характеристика SH-содержащих пептидов бромцианового расщепления  $\alpha$ -актинина

Номер образца	Молекулярная масса, кД	Удельная радиоактивность, имп/мин	N-концевая аминокислота
1	23	200	—
2	20	300	Leu
3	18	700	Leu
4	18	1200	Leu
	15		Ala
	15	1100	Ala

Из полученных результатов видно, что радиоактивная метка находится в 3, 4 и 5 образцах; в первом образце пептиды не обнаруживаются (наблюдаются только следы), образцы 2, 3, 5 являются чистыми пептидами, а 4 представляет собой смесь 3 и 5. Аминокислотный состав 3 и 5 приведен в табл. 2. Хотя образец 2 является чистым пептидом, его аминокислотный состав достаточного количества пептидного материала. Как видно из полученных результатов, пептиды бромцианового расщепления  $\alpha$ -актинина, содержащие экспонированные SH-группы достаточно крупны (15 и 18 кД), что со своей стороны свидетельствует

#### ЛИТЕРАТУРА

1. Надирашвили Н. Ш., Симоидзе М. Ш. Биофизика, XXVII, 4, 554—556, 1982.
2. Симоидзе М. Ш., Надирашвили Н. Ш., Заалишвили М. М. Изв. АН ГССР, сер. биол., 6, 3, 285—287, 1980.

о том, что активные SH-группы  $\alpha$ -актинина расположены далеко друг от друга, в разных участках субъединиц палочкообразной молекулы  $\alpha$ -актинина.

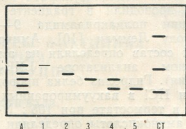


Рис. 3. Фореграммы фракции А и пептидного материала, экстрагированного из полиакриламидных гелей: 1, 2, ... — номер образца; СТ — стандартная смесь (мол. массы 30, 20 и 14 кД)

Таблица 2

Аминокислотный состав SH-содержащих пептидов бромцианового расщепления  $\alpha$ -актинина

Аминокислота	Пептиды	
	СВ-1-5	СВ-1-3
См - CYS	1	+
Asp	15	20
Thr	5	5
Ser	5	5
Glu	27	5
Pro	3	3
Gly	7	25
Ala	12	14
Val	6	12
Met	—	—
Ile	6	5
Leu	15	10
Tyr	2	5
Phe	2	8
His	8	11
Lys	12	11
Trp	—	—
Arg	7	16
Всего	133	256
N-конец	Ala	Leu

3. Croff L. R. In: Handbook of Protein Sequence Analysis, New York, 1980, 19.
4. Ebashi S., Ebashi F., Maruyama K. Nature, 203, 645—646, 1964.
5. Egorov T. A., Svenson A., Ryden



L., Carlsson J., Proc. Nat. Acad. Sci., USA, **72**, 8, 3029—3030, 1975.

6. Goll D. E., Suzuki A., Temple J. J., Holmes G. R., J. Mol. Biol., **67**, 3, 469—488, 1972.

7. Gray W. R. Meth. Enzymology, New York, **25**, 1972, 121—138.

8. Huxley H. E., Brown W. J. Mol. Biol., **30**, 2, 383—434, 1967.

9. Jeltman D. G., Jung G., Carraway K. L. BBA, **638**, 2, 201—202, 1981.

10. Laemmli J. K. Nature, **227**, 3, 680—685, 1970.

11. Martonogi A., Gouvea M. A., Cer- geli J. J. Biol. Chem., **236**, 6, 1707—1710, 1960.

12. Rosenberg S., Stratcher A., Bur- ridge K. J. Biol. Chem., **256**, 24, 12986—12991, 1981.

13. Schook W., Ores C., Puszkis S. Biochem. J., **175**, 1, 63—72, 1978.

14. Singh J., Goll D. E., Robson R. M., BBA, **670**, 1—8, 1981.

15. Stromer M. H., Goll D. E. J. Mol. Biol., **67**, 3, 489—494, 1972.

**α-აქტინინის პირველადი სტრუქტურის გამოკვლევა. ბრომციანური გახლეჩვის შედეგად მიღებული ექსპონირებული SH-ჯგუფების შემცველი პეპტიდები**

მ. სიმონიძე, კ. ჭურიძე, ნ. ნადირაშვილი, ფ. შრაიბმანი

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

**რ ე ზ ი მ ე**

α-აქტინინის ბრომციანური გახლეჩვის შედეგად მიღებული ფრაგმენტების ნარევიდან გამოვყავთ პეპტიდები, რომლებიც ექსპონირებულ SH-ჯგუფებს შეიცავენ. განსაზღვრულ იქნა მათი მოლეკულური მასები, ამინომჟავური შედ-

გენილობა და N-კიდურა ამინომჟავები. გამოთქმულია აზრი, რომ α-აქტინინის ექსპონირებული SH-ჯგუფები ცილის სუბერთეულების სხვადასხვა უბანშია განლაგებული.

**INVESTIGATION OF α-ACTININ PRIMARY STRUCTURE. PEPTIDES OF CYANOGEN BROMIDE CLEAVAGE CONTAINING EXPOSED SH-GROUPS**

M. Sh. SIMONIDZE, K. Sh. KURIDZE, N. Sh. NADIRASHVILI, F. O. SHRAIBMAN

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

**S u m m a r y**

Peptides containing exposed SH-groups were discharged from fragments mixture of cyanogen bromide cleavage. Peptides were characterized by their molecular mass, amino acid composition and N-ter-

минаl amino acid. It may be assumed that the exposed SH-groups of α-actinin are situated far from each other or in different sites of subunits of molecular α-actinin.

УДК 547.96, 616—127—002

БИОФИЗИКА

## ИЗМЕНЕНИЕ ФИЗИКО-ХИМИЧЕСКИХ И ФУНКЦИОНАЛЬНЫХ СВОЙСТВ НАТИВНОГО АКТОМИОЗИНА СЕРДЦА КРОЛИКА ПРИ АДРЕНАЛИНОВОМ МИОКАРДИТЕ

Г. В. Цитландадзе, Г. В. Микадзе, М. Г. Бурчуладзе, В. Я. Фурман,  
М. Г. Стуруа, Г. И. Гедеванишвили, М. М. Заалишвили

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

Поступила в редакцию 5.12.1985

Проведено исследование структурных и функциональных свойств нативного актомиозина (НАМ), выделенного из сердца кролика при экспериментально вызванном рецидивизирующем остром миокардите.

Показано, что на фоне некоторого снижения  $Mg^{2+}$  зависимой АТФ-азной активности НАМ из миокардитного сердца обладает более высокой сократительной способностью, а также отличается от контрольных препаратов белковым составом и некоторыми термодинамическими параметрами. Обсуждается возможная роль этих изменений в патогенезе экспериментального миокардита.

Миокардиты различных этиологий часто являются причиной повреждения мышцы сердца [18, 27, 28], особенно в детском возрасте [4, 20, 23]. Для изучения патогенеза этого повреждения сердца в эксперименте широко применяется модель адреналинового миокардита [2, 3, 19].

Известно, что при рецидивизирующем остром миокардите, вызванном двукратным на протяжении месяца введением теофиллина и адреналина, максимальная сила сокращения пораженного миокарда не отличается от контрольной, но ИФС\* макс снижается на 40% [2, 3], а АТФазная активность

НАМ на 32% [3]. В исследованиях, проведенных на моделях аллергического [32], токсико-аллергического [12, 15] и острого адреналинового миокардитов [16], также показано значительное падение сократительных пучков глицеринизированных волокон миокарда (ПГВМ).

В настоящей работе проведено дальнейшее исследование функциональных и структурных изменений, происходящих в НАМ при рецидивизирующем остром миокардите, с целью более детального выяснения патогенеза воспалительных поражений миокарда.

### МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ

Для работы использовали кроликов-самцов весом 2—3 кг. Миокардит вызывали по методике, описанной в работе [2, 3]. 20 мг теофиллина на кг веса кролика и 0,2 мл 0,1%-ного раствора адреналина вводили в вену кролика дважды с интервалом 30 дней. Кроликов декапитировали через 37—40 дней после начала моделирования

патологии. НАМ из пораженного миокардита сердца выделяли согласно ранее описанному методу [30]. Тот же метод был использован для выделения НАМ из сердца здорового кролика.

\* ИФС макс — максимальная интенсивность функционирования структур, максимальная сила сокращения на единицу веса миокарда.



$Mg^{2+}$ -аденозинтрифосфатазную активность измеряли потенциометрическим методом в среде, содержащей  $2 \cdot 10^{-4}$  АТФ;  $10^{-4}$  М  $MgCl_2$ , 0,1М КСl рН 7,5  $25^\circ C$  [6].

Получение пленочных нитей НАМ и измерение сократимости проводили по Заалишвили и Микадзе [8].

Электрофорез на 7,5%-ном полнак-

## РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

Измерение АТФазной активности НАМ показало, что при миокардите она понижена на 30% (табл. 1). Это коррелирует с данными, приведенными в работе [3].

При исследовании степени и скорости изотонического сокращения пле-

риламидном геле в присутствии додецилсульфата натрия проводили на пластинах по методу Вебера и Осборна [36] с последующей денситометрией при длине волны 600 нм на приборе CDS-200 фирмы Бекман.

Исследование термодинамических параметров НАМ проводили на дифференциальном сканирующем микрокалориметре [5].

меренные параметры приведены в табл. 3. Сужение температурного интервала плавления ( $T_k - T_n$ ) свидетельствует о заметных структурных изменениях в белковом комплексе НАМ. Уменьшение энтальпии перехода ( $\Delta H$ ) может быть следствием изменения количественных соотношений компонентов.

Полученные результаты, свидетельствующие о повышении сократимости пленочных нитей, находятся в кажущемся противоречии с имеющимися данными о снижении сократимости миокарда [2, 3] и ПГВМ [12, 15, 16, 32], наблюдаемых при воспалительных поражениях сердца.

Необходимо учесть, что при воспалительном поражении миокарда нарушаются как свойства системы контрактных белков [12, 13, 15, 16, 32], так и функционирование систем регулирования [11] и энергообеспечения [1, 10, 15, 17, 25, 26, 32] мышечного сокращения. Изменение сократимости мышцы можно рассматривать как суммарный результат относительных изменений во всех трех системах.

Полученные в данной работе результаты, свидетельствующие об изменении структуры и состава НАМ, а также повышении сократимости сформированных из него пленочных нитей, могут указывать на то, что после 37—40 дней развития миокардита в сократительном аппарате миокарда в процессе адаптации происходят перестройки, направленные на более эффективное преобразование химической энергии АТФ в механическую при нарушениях в работе других систем, обеспечивающих сокращение.

Интересные результаты были получены Карсановым и сотр. [12, 15, 16, 32] при исследовании сократимости ПГВМ в норме и при воспалительных поражениях. ПГВМ, также как и ис-

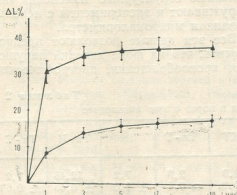


Рис. 1. Сократимость пленочных нитей НАМ сердца кролика: ○ — норма; ▲ — миокардит

ночных нитей оказалось, что их сократимость также изменена и вдвое превышает контрольные величины (рис. 1).

Электрофорез на полнакриламидном геле обнаружил заметные изменения в белковом составе НАМ. Результаты денситометрии гелевых пластинок приведены в табл. 2. Они указывают на достоверное уменьшение относительного содержания тяжелых цепей миозина и С-белка и увеличение содержания актина и тропонин-тропомиозинового комплекса.

С помощью дифференциального сканирующего микрокалориметра были исследованы кривые изменения теплоемкости растворов НАМ (концентрация 7 мг/мл, растворитель 0,1М КСl) в процессе тепловой денатурации. Из-

кусственные нити из НАМ, являются изолированной системой сократительных белков. В процессе развития миокардита функционирование этих систем должно изменяться сходным образом. В работе [15] показано, что к третьему дню протекания токсико-аллергического миокардита наблюдается падение сократимости ПГВМ, которое достигает минимума на 10-й день. В дальнейшем сократимость возрастает и к 30 дню практически доходит до

Регуляторные белки  $\alpha$ -актинин [22] и протенин М [7] могут усиливать сократительную способность НАМ, влияя на его АТФазную активность. Добавление актина в препараты НАМ также повышает сократимость без изменения АТФазы [21]. При ряде патологических состояний или изменениях режима функционирования мышцы в сократительном аппарате мышечных клеток происходят молекулярные перестройки на уровне структуры сократительных белков [12, 13, 14, 31, 34, 35, 33], и измерения их соотношения в актомиозиновом комплексе [9, 24, 29]. По всей видимости, эти перестройки носят адаптационный характер.

Таблица 1  
АТФ-азная активность НАМ в норме и при миокардите

НАМ	АТФаза мкм Рн/мг белка/мин
Норма	$0,52 \pm 0,036$
Миокардит	$0,38 \pm 0,028$

уровня сократимости ПГВМ здорового сердца. Не удивительно, что в наших работах на 40-й день сократимость пленочных нитей НАМ значительно превышает контроль.

Как видно из табл. 2, в миокардитном НАМ повышено содержание актина и белков актинового ряда, к которым относится и протенин М. Определенные структурные изменения обнаруживают и эксперименты с использованием микрокалориметра.

Все эти данные позволяют предположить, что на фоне явлений нарушения кровообращения, дистрофических

Таблица 2  
Белковый состав НАМ сердца кролика в норме и при миокардите

НАМ	ТЦМ	С	$\alpha$ - акт.	АКТ	Тн - Т	Тм	Тн - И	Тн - С
Норма	$34,95 \pm 2,25$	$9,15 \pm 0,25$	$2,15 \pm 0,05$	$12,0 \pm 0,2$	$2,8 \pm 0,1$	$7,2 \pm 1,0$	$12,45 \pm 0,45$	$7,2 \pm 0,63$
Миокардит	$28,85 \pm 2,05$	$6,0 \pm 0,2$	$2,45 \pm 0,85$	$15,6 \pm 1,0$	$3,55 \pm 0,35$	$9,45 \pm 0,05$	$14,9 \pm 0,05$	$8,75 \pm 0,37$

Таблица 3  
Термодинамические параметры плавления НАМ сердца кролика в норме и при миокардите (концентрация НАМ 7 мг/мл; растворитель — 0,6М КСl)

Параметры	Обозначения	Размерность	Норма	Миокардит
Начальная температура перехода	Тн	С°	38,1	41,9
Конечная температура перехода	Тк	С°	60	57,4
Температурный интервал перехода	Тк — Тн	С°	21,9	15,5
Температура плавления	Тмакс	С°	50,6	49
Энтальпия перехода	$\Delta H$	кал/г	3,9	2,9

Эффективность работы сократительного аппарата, несомненно, связана со структурой НАМ и соотношением входящих в него белковых компонентов.

Изменений и дефицита АТФ [15], а также при прямом нарушении контрактальной системы, вызванном воспалительными поражениями миокарда,



появление НАМ с измененными структурными и функциональными свойствами можно объяснить работой компенсаторных механизмов.

Таким образом, при воспалительном поражении миокарда на ранних стадиях происходит нарушение всех систем, обеспечивающих сокращение, а в более поздний период наблюдается адаптационная перестройка контрактной системы, приводящая к более

эффективному преобразованию химической энергии в механическую работу актомиозином.

Повышение эффективности функционирования НАМ, выражающееся в повышенной сократимости пленочных нитей при пониженной АТФазной активности не компенсирует нарушения в других звеньях, необходимых для сокращения.

## ЛИТЕРАТУРА

1. Андреев С. В., Соколов М. В. В сб.: Саногенез, «Медицина», М., 1962, 91—92.
2. Баринян С. Б. Бюлл. экспер. биол. и мед. X, 8, 1965, 29—31.
3. Баринян С. Б. Сократительная функция и некоторые показатели метаболизма сердечной мышцы при экспериментальном миокардите, Автореф. канд. дисс., М., 1966.
4. Белоконь Н. А. Педиатрия, 4, 1977, 40—46.
5. Герасимов В. В., Геташвили Г. Р., Мелитаури Т. Г., Михайлов В. С. В кн.: Вопросы биохимии нервной и мышечной систем, «Мецниереба», Тбилиси, 1972, 134—145.
6. Гачечиладзе Н. А., Заалишвили М. М. Сообщения АН ГССР, 59, 3, 693—696, 1970.
7. Заалишвили М. М., Микадзе Г. В., Сургуладзе Т. Г. Сообщения АН ГССР, 44, 1, 99—106, 1966.
8. Заалишвили М. М., Микадзе Г. В., Биохимия, 24, 4, 612—623, 1959.
9. Кайфаджан М. А. Физико-химические особенности и АТФазная активность актомиозина миокарда и скелетных мышц в условиях изменения режима их деятельности. Автореф. канд. дисс. Ереван, 1985.
10. Карсанов Н. В., Бочоришвили В. Г., Хаиндрава Н. К., Батиашвили Г. А., Дабрундашвили М. Д. В сб.: Биофизические основы патологического состояния мышц и энергетическое обеспечение сократительного аппарата, «Мецниереба», Тбилиси, 1973, 98—100.
11. Карсанов Н. В., Хугашвили З. Г., Эдишерашвили Н. О., Узуния Р. В. Изв. АН ГССР, сер. биол., 7, 5, 468—476, 1981.
12. Карсанов Н. В., Джинчвелашвили Б. Г. Сообщения АН ГССР, 103, 2, 461—464, 1981.
13. Карсанов Н. В., Эристави Д. Д., Джинчвелашвили Б. Г. Изв. АН ГССР, сер. биол., 7, 6, 561—568, 1981.
14. Карсанов Н. В., Джинчвелашвили Б. Г. Сообщения АН ГССР, 103, 1, 169—172, 1981.
15. Карсанов Н. В., Капанадзе Р. В., Селихова Е. В., Убери Н. П. Изв. АН ГССР, сер. биол., 6, 5, 429—439, 1980.
16. Карсанов Н. В. В сб.: Вопросы биохимии нервной и мышечной систем, 3, «Мецниереба», Тбилиси, 1979, 76—83.
17. Карсанов Н. В., Лацабидзе Н. Л., Селихова Е. В. В сб.: Ультраструктура сердечно-сосудистой системы в норме и патологии, «Мецниереба», Тбилиси, 1976, 84—85.
18. Кедров А. А. Болезни мышцы сердца, «Медицина», Л., 1963.
19. Воспроизведение заболеваний у животных для экспериментально-терапевтических исследований (Под ред. проф. Лазарева Н. В.), «Медгиз», 1954, 214.
20. Мазурин А. Р., Кривченко Н. В., Агейкин В. А., Сафонов А. Б. Педиатрия, 4, 12—18, 1974.
21. Микадзе Г. В., Гогнадзе Н. И., Заалишвили М. М. В кн.: Структурные основы и регуляция биологической подвижности, «Наука», М., 1980, 118—120.
22. Михайлов В. С., Фурман В. Я., Герасимов В. В., Заалишвили М. М. Семинар по конформационным изменениям биополимеров в растворах, Тбилиси, 1970.
23. Мухарлямов Н. М., Чаргоглян Р. А. Кардиология, 4, 141—150, 1974.
24. Оганесян С. С., Заминян Т. С., Элоян М. Л., Геворкян Р. А., Мобсесян А. Р. В кн.: Метаболизм миокарда, М., «Медицина», 1977, 189.
25. Северин С. Б., Цейтлин Л. А. Вопр. мед. химии, 3, 300—305, 1964.
26. Селихова Е. В. В сб.: Современные проблемы кардиологии, «Мецниереба», Тбилиси, 1976, 455—457.

27. Сененко А. М. Сердце и очаговая инфекция, «Медицина», Л., 1973.
28. Рапопорт Я. Л. Арх. пат., 6, 13—20, 1974.
29. Тикунов Б. А. Изменение физико-химических и молекулярных свойств сократительного белкового аппарата мышц в экспериментальных условиях. Автореф. канд. дисс., Ереван, 1985.
30. Цитлანадзе Г. В., Заалишвили М. М. Изв. АН ГССР, сер. биол., 5, 3, 259—264, 1979.
31. Цитлანадзе Г. В., Шрайбман Ф. О., Фурман В. Я., Стуря М. Г., Гедеванишвили Г. И., Заалишвили М. М. Кровообращение, XVIII, 22, 1985.
32. Kipshidze N. N., Karsanov N. V., Guchua E. J., Selikova E. V. Drugs, Expl. Clin. Res., 4, 127—136, 1978.
33. Leger J. J. Biochim., 57, 1249, 1975.
34. Morkin E. Circulation Res., 44, 1, 1—7, 1979.
35. Thyrum T., Kritcher E. M., Luchi J. B. V. A. 197, 2, 355—356, 1970.
36. Weber K., Osborn J. J. J. Biol. Chem., 244, 15, 4406—4412.

ბოცვრის გულის ნატივური აქტომიოზინის ფიზიკა-ქიმიური და ფუნქციური თვისებების ცვლილებები ადრენალური მიოკარდიტის დროს

ბ. წითლანაძე, ბ. მიკაძე, მ. ბურჩულაძე, ვ. ფურმანი, მ. სტურა, ბ. გედევანიშვილი, მ. ჯაალიშვილი

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

რეზიუმე

შესწავლილ იქნა ბოცვრის გულის ნატივური აქტომიოზინის ზოგიერთი თვისება ექსპერიმენტულად გამოწვეული მწვავე მიოკარდიტის დროს. გამოიკვება, რომ  $Mg^{2+}$ -დამოკიდებული ატფ-აზური აქტივობის უმნიშვნელოდ შემცირების ფონზე, მიოკარდიტიანი გულიდან გამოყოფილ აქტომიოზინს, ნორმალურთან

შედარებით უფრო მაღალი შეკუმშვის უნარი აქვს. იგი განსაკუთრებული ცილოვანი შემადგენლობითა და ზოგიერთი თერმოდინამიკური პარამეტრით გამოირჩევა. ნაშრომში განხილულია ამ ცვლილებათა შესაძლო როლი ექსპერიმენტული მიოკარდიტის პათოგენეზში.

CHANGE OF PHYSICO-CHEMICAL AND FUNCTIONAL PROPERTIES OF NATIVE ACTOMYOSIN FROM THE RABBIT HEART WITH ADRENALINE MYOCARDITIS

G. V. TSITLANADZE, G. V. MIKADZE, M. G. BURCHULADZE, V. I. FURMAN, M. G. STURUA, G. I. GEDEVANISHVILI, M. M. ZAALISHVILI

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

S u m m a r y

Study was made of a number of properties of native actomyosin isolated from the rabbits heart in experimentally evoked relapsing acute myocarditis. During some decrease of  $Mg^{2+}$  dependent ATPase activity, native actomyosin from the myocarditic heart was shown to possess

higher contractile ability and it differed from control preparations in protein composition and some thermodynamic parameters. A possible role of these changes in pathogenesis of experimental myocarditis is discussed.



УДК 612.821.2+612.825.261

КРАТКИЕ СООБЩЕНИЯ

## РЕАКТИВНОСТЬ ОТДИФФЕРЕНЦИРОВАННЫХ В ПОВЕДЕНЧЕСКОМ ТЕСТЕ НЕЙРОНОВ ПРЕФРОНТАЛЬНОЙ КОРЫ НА РАЗДРАЖЕНИЕ НЕКОТОРЫХ СТРУКТУР МОЗГА ОБЕЗЬЯН

Т. Л. Нанейшвили, М. Г. Дашниани, Г. И. Мачавариани

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

Поступила в редакцию 22.05.1984

Одним из наиболее достоверных феноменов экспериментальной нейробиологии является дефицит в исполнении пространственных отсроченных реакций (ПОР), который проявляется у низших обезьян после локальных повреждений в пределах дорсолатеральной префронтальной коры, а в частности коры вокруг главной борозды (КВГБ) [1, 3]. Следовательно, наиболее адекватным путем исследования нейронных механизмов, лежащих в основе исполнения ПОР, а также выяснения некоторых закономерностей функциональной организации префронтальной коры является определение тех параметров нейронной активности, которые коррелируют и причинно связаны с данным видом поведения и соответственно отражают принцип организации, специфику функционирования данного коркового субстрата. Так как функция той или иной мозговой структуры в значительной мере определяется ее анатомическими связями с другими структурами мозга, исследование организации афферентных импульсаций, поступающих на нейроны КВГБ из различных мозговых структур, может дать сведения о некоторых закономерностях в свете поставленной проблемы.

С целью изучения функциональной организации афферентной импульсации в КВГБ изучали реактивность нейронов, отдифференцированных по характеру их активности в программе ПОР, в ответ на электрическое раздражение тех мозговых структур с ко-

торыми КВГБ имеет анатомические и функциональные связи (дорсомедиальное ядро таламуса, нижневисочная кора, гипоталамус и головка хвостатого ядра) [2, 5, 6, 7].

Эксперименты проведены на 5 половозрелых обезьянах (*macaca mulatta*) массой от 3 до 6 кг. Пространственные отсроченные реакции на обезьянах исследовались в условиях висконсинского тест-аппарата. Во время экспериментов животные находились в приматологическом кресле, в изолированной звуконепроницаемой кабине. Программа теста была следующей: на лицевой панели висконсинского тест-аппарата в течение 0,5—1 с светилась центральная лампочка (красный свет), что указывало на начало пробы; через 2—3 с подавался условный сигнал — свечение лампочки с правой или с левой стороны в течение 2—3 с; затем, после истечения периода отсрочки (длительность 5—10 с), обезьяне предоставлялась возможность осуществить пищедобывательную инструментальную реакцию — нажатие на рычаг. При правильном решении задачи обезьяна получала порцию фруктового сока. Правильным ответом считали нажатие ею на тот рычаг, над которым светилась лампочка. После достижения критерияльного уровня (90% правильных ответов из 100 проб) исполнения данного теста под ингаляционным эфирным наркозом обезьяне производилась хирургическая операция с целью размещения на костях черепа винтов, для последу-

ющей фиксации ее головы в приматологическом кресле и установления цилиндра, предназначенного для системы микроманипулятора. Кроме того, во время операции в различные корковые и подкорковые структуры мозга обезьяны, с целью последующей их стимуляции, вживляли макроэлектроды. Регистрацию нейронной активности производили с помощью методики, представляющей собой модифици-

рованный вариант метода Эварта [4]. Для электрической стимуляции мозговых структур использовали одиночные прямоугольные импульсы с длительностью 0,1—0,5 мс, генерируемые электростимулятором. По окончании опытов проводили морфологический контроль координат отведения и мест стимуляции на серийных срезах мозга.

## ПОЛУЧЕННЫЕ РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

Регистрация активности нейронов КВГБ во время исполнения обезьяна-

ми ПОР показала, что активность различных нейронов коррелирует с разными периодами теста. Схематическое изображение активности нейронов различных типов дано на рис. 1. Определение факторов, влияющих на активность этих нейронов, позволило дифференцировать типы нейронов, которые реагируют в разных периодах — в период отсрочки (тип I), в период предъявления условного раздражителя и осуществления инструментального моторного действия (тип II), предъявления предупреждающего и условного раздражителей (тип III), осуществления инструментального моторного действия (тип IV), вознаграждения (тип V), а также нейроны, меняющие паттерн фоновой активности в течение всего периода данной поведенческой программы (тип VI). По всей вероятности, нейроны, принадлежащие к различным типам, заняты в обработке различных процессов, обеспечивающих исполнение ПОР и, следовательно, представляют собой различные функциональные единицы. По нашему мнению, если дифференцированные нами типы нейронов отражают существующие в КВГБ функциональные единицы, то они должны отличаться друг от друга и своими афферентными и эфферентными связями.

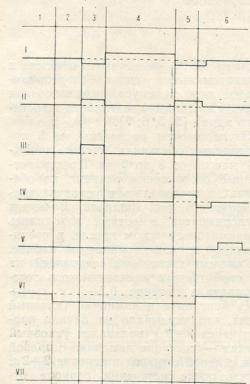


Рис. 1. Схематическое изображение отдельных типов нейронов, дифференцированных по характеру их активности во время исполнения обезьянами пространственных отсроченных реакций; римскими цифрами обозначены различные типы нейронов, арабскими — различные периоды программы теста; I — межпробный интервал, 2, 3, 4, 5, 6 — соответственно периоды между предупреждающим и условным сигналами, периоды предъявления условного сигнала, отсрочки, осуществления инструментального ответа, подкрепления; отклонение сплошной линии от пунктирной обозначает изменение фоновой активности нейрона

Исследование организации афферентной импульсации, поступающей на идентифицированные в поведенческом тесте нейроны КВГБ, показало, что отдельные типы нейронов проявляют неодинаковую реактивность в ответ на одиночное электрическое раздражение различных мозговых структур. Сводные данные о реактивности различных типов нейронов КВГБ в ответ на раздражение некоторых мозговых структур приведены

Таблица

Характеристика реактивности нейронов КВГБ на раздражение различных мозговых структур

Структуры	Типы нейронов								Сумма	
	I		II		III		IV		исследованные	реактивные (%)
	исследованные	реактивные (%)	исследованные	реактивные (%)	исследованные	реактивные (%)	исследованные	реактивные (%)		
Дорсомедиальное ядро таламуса	81	37 (46)	22	3 (14)	24	0	52	8 (15)	189	48 (25)
Нижневисочная кора	71	9 (13)	2	4 (19)	31	7 (23)	50	4 (8)	173	24 (14)
Хвостатое ядро	77	13 (16)	26	6 (23)	27	0	43	9 (20)	173	23 (16)
Гипоталамус	90	14 (16)	18	4 (22)	23	3 (11)	41	2 (5)	176	23 (13)
Сумма исследованных нейронов	140	—	28	—	39	—	56	—	263	—
Количество реактивных нейронов	—	54 (39)	—	12 (42)	—	9 (23)	—	14 (25)	—	88 (34)

в таблице I. Из всех исследованных 263 нейронов 88 (33%) реагировали на стимуляцию хотя бы одной структуры. Нейроны I типа преимущественно реагировали на раздражение дорсомедиального ядра таламуса, нейроны II типа проявляли одинаковую реактивность ко всем применяемым раздражителям, нейроны III типа наиболее часто отвечали на раздражение нижневисочной коры и гипоталамуса и не отвечали на раздражение дорсомедиального ядра таламуса и голловки хвостатого ядра.

Нейроны IV типа преимущественно отвечали на раздражение дорсомеди-

ального ядра таламуса и голловки хвостатого ядра.

Полученные данные дают возможность предполагать, что отдельные типы нейронов КВГБ объединены в различных функциональных системах и участвуют в различных процессах, необходимых для исполнения животными ПОР. По-видимому, в определенные периоды данной поведенческой программы действуют различные функциональные системы, и во время исполнения ПОР происходит поэтапное их включение в процесс обработки информации.

## ЛИТЕРАТУРА

1. Бакурадзе А. Н., Нанейшвили Т. Л., Мачавариани Г. И., Дашиани М. Г., Арагвели Р. И., Гугушвили Л. Н. В сб.: Гагрские беседы (VIII), «Мещиереба», Тбилиси, 1985.
2. Ермоленко С. Ф., Хасабов Г. А., Павлидис Т. П., Лебедева Н. Е., Арх. анат., 71, 9—14, 1976.
3. Butters N., Pandya D., Sanders K., Dye L. J. Comp. Physiol. Psychol., 76, 8—14, 1971.
4. Everts E. V. J. Neurophysiol., 29, 1011—1027, 1966.
5. Chavis D. A., Pandya D. N., Brain Res., 117, 369—386, 1976.
6. Jacobson S., Butters N., Tovskey N. J. Brain Res., 159, 279—296, 1978.
7. Kievit J., Kuypers H. G. J. M. Exp. Brain Res., 29, 299—322, 1977.

კვებითი ტესტის დროს იდენტიფიცირებადი პრეფრონტალური ქირის ნეირონთა რეაქტიულობა გაიკვირის ტვინის ზოგიერთი სტრუქტურის გალიზანების საკასხოდ

თ. ნანიშვილი, მ. დუნიანი, ზ. მახავარიანი

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

## რ ე ზ ი მ ე

ქვევითი ტესტის დროს (სივრცითი დაყოვნებული რეაქცია) იდენტიფიცირებულ პრეფრონტალურ ნეირონებზე მოსული აფერენტული იმპულსაციის კვლევამ დაგვანახა, რომ ამ მიდამოში ერთიმეორისაგან გამოირჩევიან სხვადასხვა ტიპის ნეირონები, რომლებიც ტვინის სხვადასხვა სტრუქტურის განსხვავებული რე-

აქტიულობით ხასიათდებიან. გამოთქმულია მოსაზრება, რომ ნეირონთა ცალკეული ტიპები სხვადასხვა ფუნქციურ სისტემებში არიან გაერთიანებულნი და სივრცითი დაყოვნებული რეაქციების შესრულების დროს განსხვავებულ პროცესებში ღებულობენ მონაწილეობას.



# RESPONSIVENESS OF THE PREFRONTAL NEURONS IDENTIFIED IN BEHAVIORAL TEST ON THE STIMULATION OF SOME BRAIN STRUCTURES IN MONKEYS



T. L. NANEISHVILI, M. G. DASHNIANI, G. I. MACHAVARIANI

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

## Summary

A study of the organization of afferent impulsion arriving in the prefrontal neurons identified in behavioral test (spatial delayed reaction—SDR) has demonstrated that individual types of neurons show different responsiveness to a

single electrical stimulation of various brain structures. It is suggested that individual types of neurons are integrated into different functional systems and they participate in a variety of processes required for the performance of SDR.

УДК: 616.036—882—07—616—155.32—0973

КРАТКИЕ СООБЩЕНИЯ

## ИЗМЕНЕНИЯ ИММУННОГО СТАТУСА БОЛЬНЫХ В ТЕРМИНАЛЬНОМ СОСТОЯНИИ В СВЯЗИ С ЭКСТРАКОРПОРАЛЬНОЙ ПЕРФУЗИЕЙ КРОВИ ЧЕРЕЗ АКТИВИРОВАННЫЙ УГОЛЬ

З. С. Хеладзе

*Тбилисский государственный медицинский институт*

Поступила в редакцию 13.04.1984

В настоящее время гемокарбоперфузия приобрела широкое распространение и применяется с целью лечения многих заболеваний [1]. При этом имеются наблюдения, порой весьма обнадеживающие, о применении гемокарбоперфузии при лечении терминальных состояний [2, 3]. Причиной этого, наряду с фактом значительного уменьшения содержания в

перфузируемой крови эритроцитов, лейкоцитов, тромбоцитов, белков, ферментов, гормонов и других естественных, необходимых для нормальной жизнедеятельности компонентов, стал факт обнаружения у терминальных больных углубления иммунодефицитного состояния в связи с гемокарбоперфузией. Изучению этого вопроса и посвящена данная работа.

### МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ

Материалом послужили наблюдения 22 больных, находившихся в терминальном состоянии, которым была проведена гемокарбоперфузия. Терминальное состояние было обусловлено травмой, перитонитом, столбняком, кровотечением, бронхоастматическим статусом и другими причинами. Гемокарбоперфузия осуществлялась наряду с другими реанимационными мероприятиями — искусственная вентиляция легких и др. [4]. Перфузия крови осуществлялась через артерио-венозный экстракорпоральный круг кровообращения, в систему которого подключали роликовый насос и колонку с сорбентом (активированный уголь марки СКН-2Н). Скорость кровотока поддерживалась в пределах 50—100 мл/мин, продолжительность перфузии составляла 60—90 мин. Перфузию осуществляли на фоне предварительной гепаринизации больных (80—100 ед/кг). До и после завершения перфузии проводили обследование им-

мунологического статуса больных. Чистая взвесь мононуклеарных клеток (содержащая 93—96% этих клеток) выделялась в одноступенчатом градиенте фиколл-верографина, конечная плотность которого составляла 1,0792 г/см<sup>3</sup>. Выявлялась способность этих клеток образовывать эритроцитарные и комплементарные розетки, пролиферировать под влиянием фитогемоглютинина-ФГА, супрессировать иммунный ответ в первичной одноплавленной смешанной культуре лимфоцитов, развивать анамнестический тип иммунного ответа или ингибировать процесс миграции лейкоцитов. В сыворотке крови определяли также содержание иммуноглобулинов А, М и G и иммунных комплексов [5]. Контролем служили больные, находящиеся в терминальном состоянии, которым гемокарбоперфузия не была подключена в курс лечения, и здоровые доноры.

Показатели иммунного статуса среди обследованных лиц

Группа обследованных лиц	Показатели статистической обработки	Абсолютное количество клеток в 1 мм <sup>3</sup> крови				Способность пролиферации Т-клеток под влиянием митогена в %	Супрессорная активность Т-клеток в %	Интенсивность анамнестического типа иммунного ответа в %	Активность фактора ингибции миграции лейкоцитов в %				Количество иммунных комплексов в мл %	Количество сывороточных иммуноглобулинов в мг %		
		лимфоциты	эритроцитарные ретикулы	комплексные ретикулы	псевдоклетки				стафилококк	стрептококк	клеточная палочка	пневмококк		А	М	G
Здоровые доноры	$\bar{X} \pm m$	2059,6 $\pm$ 81,5	1032,3 $\pm$ 24,0	221,6 $\pm$ 8,3	80,3 $\pm$ 2,7	26,5 $\pm$ 5,1	37,0 $\pm$ 6,3	84,4 $\pm$ 2,0	87,5 $\pm$ 2,0	75,8 $\pm$ 2,0	86,0 $\pm$ 2,0	2,3 $\pm$ 0,6	252,0 $\pm$ 7,2	106,0 $\pm$ 3,6	1215,0 $\pm$ 11,3	
	p	< 0,001	< 0,001	< 0,001	< 0,001	< 0,02	< 0,001	0,001	< 0,01	< 0,001	< 0,001	< 0,001	< 0,001	> 0,05	< 0,001	
Больные перед гемокоррекцией	$\bar{X} \pm m$	1560,2 $\pm$ 24,3	832,5 $\pm$ 9,5	140,5 $\pm$ 7,4	49,8 $\pm$ 2,3	13,5 $\pm$ 1,4	90,5 $\pm$ 4,1	67,2 $\pm$ 1,9	66,9 $\pm$ 2,1	66,7 $\pm$ 8,9	68,3 $\pm$ 2,6	12,3 $\pm$ 2,6	168,5 $\pm$ 7,7	119,2 $\pm$ 8,7	895,0 $\pm$ 35,1	
	p	< 0,001	< 0,001	< 0,001	< 0,001	< 0,02	< 0,001	0,001	< 0,01	< 0,001	< 0,001	< 0,001	< 0,001	> 0,05	< 0,001	
Больные после гемокоррекции	$\bar{X} \pm m$	946,2 $\pm$ 50,3	569,6 $\pm$ 31,1	72,1 $\pm$ 2,8	27,6 $\pm$ 1,9	7,2 $\pm$ 0,8	141,7 $\pm$ 5,5	31,8 $\pm$ 4,2	31,7 $\pm$ 4,2	33,3 $\pm$ 5,3	4,6 $\pm$ 1,0	4,6 $\pm$ 1,0	61,1 $\pm$ 3,0	57,7 $\pm$ 3,9	445,1 $\pm$ 29,3	
	p	< 0,001	< 0,001	< 0,001	< 0,001	< 0,001	< 0,001	< 0,001	< 0,001	< 0,001	< 0,001	< 0,001	< 0,001	> 0,001	< 0,001	

Примечание:  $\bar{X}$  — обозначает величину среднего арифметического, m — величину среднеквадратической ошибки, P — статистическую достоверность различия между средними арифметическими двух выборочных совокупностей



В результате проведенного наблюдения удалось установить (таблица), что гемокарбоперфузия сопровождается значительным ( $P < 0,001$ ) снижением количества лимфоцитов ( $946,2 \pm 50,3$  кл/мм<sup>3</sup>), эритроцитарных ( $569,6 \pm 31,1$  кл/мм<sup>3</sup>) и комплементарных ( $72,1 \pm 2,9$  кл/мм<sup>3</sup>) розеткообразующих клеток. Угнетается также способность иммунокомпетентных Т-клеток к пролиферации ( $27,6 \pm 1,0\%$ ), супрессии ( $7,2 \pm 0,8\%$ ), иммунной «памяти» ( $141,7 \pm 5,5\%$ ) и ингибции миграции лейкоцитов ( $39,1 \pm 4,8$ ,  $31,8 \pm 4,2$ ,  $31,7 \pm 4,2$ ,  $33,3 \pm 5,3\%$  при стимуляции лимфоцитов соответственно антигенами стафилококка, стрептококка, кишечной палочки и пневмококка). В сыворотке крови уменьшается содержание иммуноглобулинов А, М и G ( $61,1 \pm 3,0$ ,  $57,7 \pm 3,9$  и  $446,1 \pm 29,3$  мг% соответственно) и иммунных комплексов ( $4,6 \pm 1,0\%$ ). При этом следует отметить, что у этих больных состояние иммунодефицита регистрировалось до перфузии, а последняя лишь усугубляла эту картину (таблица). Учитывая важную роль вторичного иммунодефицита в формировании терминальных

состояний или тех осложнений, которые, как правило, возникают в ходе реанимации больных [6], становится очевидным, что при терминальных состояниях гемокарбоперфузия может ухудшить, а не улучшить состояние больных. Доказательством этому может служить тот факт, что гемокарбоперфузия не способствовала снижению летальности среди обследованных больных и даже увеличивала этот показатель. Кроме того, при гемокарбоперфузии у двенадцати больных усугублялись респираторные расстройства, признаки диссеминированного внутрисосудистого свертывания крови и другие сопутствующие терминальному состоянию патологические явления.

На основании проведенного наблюдения можно заключить, что показания к проведению гемосорбции при терминальных состояниях должно быть строго ограничено. К гемокарбоперфузии, по-видимому, следует прибегать лишь в тех случаях терминальных состояний, когда нет опасности, что углубление иммунодефицита резко отразится на состоянии больного.

ЛИТЕРАТУРА

1. Лопухин Ю. М., Молоденков М. Н. Гемосорбция, «Медицина», М., 1978.
2. Мачавариани Ш. С., Хеладзе З. С. Материалы к совместному совещанию проблемной комиссии «Анестезиология и реаниматология» МЗ РСФСР и шестого пленума Правления Всесоюзного научного медицинского общества анестезиологов и реаниматологов, Иркутск, 1983, 158—159.
3. Мачавариани Ш. С., Хеладзе З. С. III Всесоюзный съезд анестезиологов и реаниматологов, Рига, 1983, 341—342.
4. Неговский В. А., Гурвич А. М., Золотокрылина Е. С. Постреанимационная болезнь, «Медицина», М., 1980.
5. Хеладзе З. С. Информативность исследования иммунного статуса и эффективность иммуномодулирующей терапии среди больных реанимационного профиля (Мет. указания), Тбилиси, 1983.
6. Хеладзе З. С. Особенности перестройки иммунного статуса при критических состояниях организма, Автореф. канд. дисс., Тбилиси, 1983.

ტერმინალურ მდგომარეობაში მყოფ ავადმყოფთა იმუნური სტატუსის ჰემოკარბოპერფუზიით გამოწვეული ცვლილებანი

ზ. ხელაძე

თბილისის სახელმწიფო სამედიცინო ინსტიტუტი

რეზიუმე

დადგინდა, რომ ჰემოკარბოპერფუზია აღრმავებს მეორადი იმუნოდეფიციტის სურათს ავადმყოფთა ტერმინალური მდგომარეობის დროს. ეს ფაქტი გვიკარანხებს, რომ რეანიმაციულ პრაქტიკაში ჰემოკარ-

ბოპერფუზიის გამოყენება მკვეთრად უნდა შეიზღუდოს და მხოლოდ იმ შემთხვევაში ჩატარდეს, თუ იმუნოდეფიციტის გაღრმავება ავადმყოფის შემდგომ ბედზე უარყოფითად არ იმოქმედებს.



HAEMOCARBOPERFUSION DEPENDENT ALTERATION OF IMMUNE STATUS DURING TERMINAL CONDITIONS OF THE ORGANISM



Z. S. KHELADZE

Tbilisi State Medical Institute

S u m m a r y

The dynamics of immunological changes in the terminal conditions of the organism induced by extracorporeal perfusion of blood through the activated coal. Haemoperfusion of this type was shown to aggravate the secondary immunodeficit

usually accompanying the terminal condition. It is noted that the efficiency of haemocarboperfusion in the treatment of terminal condition seems to be exaggerated and its usage in resuscitation measures ought to be limited.

Корректор Д. Р. Арчвадзе

Сдано в набор 25.04.1986; Подписано к печати 24.07.1986; Формат бумаги  
70×108<sup>1</sup>/<sub>16</sub>; Бумага № 1; Печатных л. 6,3; Уч.-издат. л. 5,9;  
УЭ 06853; Тираж 1050; Заказ № 1381;

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 ГССР, Тбилиси, 380060, ул. Кутузова, 19

## К СВЕДЕНИЮ АВТОРОВ

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

12. Авторы получают бесплатно 12 отдельных оттисков.

664/157



Цена 85 коп.

Индекс 76204