

BIOLOGICAL SERIES

784-8  
1986



ISSN 0013-788X

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

ბიოლოგიის  
სერია  
СЕРИЯ  
БИОЛОГИЧЕСКАЯ

1986 N5 - თბილისი - ტფილისი - თბილისი  
Tbilisi - Tbilisi - Tbilisi  
TOM 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, № 5  
Том

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

**სარედაქციო კოლეგია:**

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

ლ. გაბუნია, ს. ღურმიშიძე, მ. ზაალიშვილი, გ. თუმანიშვილი,  
გ. კანდელაკი, კ. ნადარეიშვილი, გ. ნახუცრიშვილი, გ. სანაძე, ზ. ყურაშვილი,  
ნ. ძიძიშვილი, თ. ქანიშვილი, შ. ქანიშვილი, ნ. ჯავახიშვილი  
ბასუხისმგებელი მდივანი ს. ლაბაძე

**РЕДАКЦИОННАЯ КОЛЛЕГИЯ:**

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

Л. К. Габунья, Н. А. Джавахишвили, Н. Н. Дзидзишвили, С. В. Дурмишидзе,  
К. Ш. Надарейшвили, Г. Ш. Нахуцришвили, Г. А. Санадзе, Г. Д. Туманишвили,  
М. М. Заалишвили, Г. В. Канделаки, Б. Е. Курашвили,  
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,  
G. A. Sanadze, G. D. Tumanishvili, M. M. Zaalishvili  
B. E. Kurashvili, K. Sh. Nadareishvili, G. Sh. Nakhutsrishvili,  
Executive Secretary S. R. Labadze

© Известия АН ГССР  
Серия биологическая, 1986

Корректор Д. Р. Арчвадзе

Сдано в набор 25.04.1986; Подписано к печати 23.10.1986; Формат бумаги  
70×108<sup>1</sup>/<sub>16</sub>; Бумага № 1; Печатных л. 6,3; Уч.-издат. л. 5,9;  
УЭ 06969; Тираж 1050; Заказ № 2369;

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

СОДЕРЖАНИЕ—შიგავსი—CONTENTS

|   |     |
|---|-----|
| Т. Ш. Лабахуа, М. Г. Кокая, В. М. Окуджава. Предполагаемые потенциалы действия дендритов пирамидных нейронов сенсомоторной коры кошки                                     | 293 |
| თ. ლაბახუა, მ. კოკაია, ვ. ოკუჯავა. კატის სენსომოტორული ქერქის პირამიდულ ნეირონთა დენდრიტების სავარაუდო მოქმედების პოტენციალები  |     |
| T. Sh. Labakhua, M. G. Kokaia, V. M. Okujava. Presumed dendritic action potentials in pyramidal neurons in cat's sensorimotor cortex                                      |     |
| Т. Ш. Лабахуа, М. Г. Кокая, В. М. Окуджава. Реакция глиальных клеток сенсомоторной коры кошки при активности типа пик-волна   | 299 |
| თ. ლაბახუა, მ. კოკაია, ვ. ოკუჯავა. კატის სენსომოტორული ქერქის პიკ-ტალღოვანი რიტმული აქტივობის დროს გლიური უჯრედების რეაქციები   |     |
| T. Sh. Labakhua, M. G. Kokaia, V. M. Okujava. Reactions of glial cells of cat's sensorimotor cortex during spike-and-wave activity  |     |
| Н. А. Гзиршвили, Ц. Г. Хухунейшвили, Л. А. Камараули. Динамика изменения содержания альдостерона и ренина в крови у кроликов при болевом стрессе                          | 304 |
| ნ. ა. გზირიშვილი, ც. ხუხუნეიშვილი, ლ. ყამარაული. ბოცვრების სისხლში ალდოსტერონისა და რენინის ცვლილების დინამიკა ტკივილთ გამოწვეული სტრესის დროს                            |     |
| N. A. Gzirishvili, Ts. G. Khukhuneishvili, L. A. Kamarauli. The dynamics of changes in aldosterone and renin content in the rabbit's blood during nociceptive stimulation |     |
| Н. А. Костенко. Влияние ионов на распределение нейроглиальных клеток в супрасильвиевой извилине мозга кошки   | 313 |
| ნ. კოსტენკო. კალიუმის იონთა გავლენა ნეიროგლიური უჯრედების განაწილებაზე კატის თავის ტვინის სუპრასილივიურ ხვეულში   |     |
| N. A. Kostenko. Influence of K <sup>+</sup> on the distribution of neuroglial cells in suprasylvian gyrus of cat's brain  |     |
| Н. О. Гониашвили, Н. Н. Нуцубидзе. Зависимость некоторых показателей нитрогеназы, выделяемой из Azotobacter vinelandii UW-OP от свойств реакционной среды                 | 318 |
| ნ. ონიაშვილი, ნ. ნუცუბიძე. Azotobacter vinelandii UW-OP-ის ნიტროგენაზის ზოგადი მახასიათებლის დამოკიდებულება სარეაქციო არის თვისებებზე                                     |     |
| N. O. Goniashvili, N. N. Nutsubidze. Dependence of some nitrogenase induced from Azotobacter vinelandii UW -OP on reaction medium characteristics                         |     |
| Ш. К. Шетекаури. Коэффициент сходства петрофильной флоры высокогорий Сванети, Рача-Лечхуми и Юго-Осетии (южные склоны Центрального Кавказа)                               | 325 |
| შ. შეტეკაური. სვანეთის, რაჭა-ლეჩხუმისა და სამხრეთ ოსეთის (ცენტრალური კავკასიონის სამხრეთი კალთები) მაღალი მთის პეტროფილური ფლორის მსგავსების კოეფიციენტი                  |     |
| Sh. K. Shetekaury. Similarity coefficient of the petrophilic flora of Svaneti, Racha-Lechkhumi and South-Oseti high mountains (south slopes of the Central Caucasus)      |     |
| Л. К. Малинин, Т. Р. Кокосадзе. О плотности и пространственном распределении рыб в Тбилиском водохранилище  | 329 |
| ლ. მალინინი, თ. ქოქოსაძე. თბილისის წყალსაცავში თევზების სივრცობრივი გავრცელება და სიმჭიდროვე.   |     |
| L. K. Malinin, T. R. Kokosadze. On Abundance and spacing of fishes in Tbilisi reservoir   |     |

18934

ნაქ. სსრ კ. მარქსის  
 ნ. ს. მან. რეკონსტრუქცია  
 1986 წლის 10 თვისთვის



- Дж. А. Джеджелава, Т. Г. Чанишвили. Влияние формальдегида и аминометилольных соединений на выживаемость и индукцию колициногенности у мутантов *Escherichia Coli* по репарации и рекомбинации
- ჭ. ჯეჯელავა, თ. ჩანიშვილი. ფორმალდეჰიდისა და ამინომეთილოლური შენაერთების გავლენა *Escherichia Coli*-ს რეპარაციული და რეკომბინაციული მუტანტების სიცოცხლისუნარიანობასა და კოლიცინოგენობის ინდუქციაზე
- J. A. Jejelava, T. G. Chanishvili. Effect of formaldehyde and aminomethylol compounds on the survival and induction of colicinogeny in uvr- and rec-mutants of *Escherichia Coli*. 340
- М. Н. Самадашвили, М. Н. Бехтерева. Влияние органических азотсодержащих компонентов среды на рост и липогенез микроскопического гриба рода *Entomophthora*. 340
- მ. სამადაშვილი, მ. ბეხტერევა. საკვები არის ორგანული აზოტშემცველი კომპონენტების გავლენა მიკროსკოპული სოკოს (გვარი *Entomophthora*) ზრდასა და ლიპოგენეზზე
- M. N. Samadashvili, M. N. Bekhtereva. Influence of organic nitrogen-contained component media on growth and lipogenesis of microscopic fungus of *Entomophthora* generis
- З. Д. Урушадзе. Перенос заряда через модельную биологическую мембрану 347
- ზ. ურუშაძე. მუხტის გადატანა მოდელურ ბიოლოგიურ მემბრანაში.
- Z. D. Urushadze. The charge transfer across the model biological membrane
- Д. В. Чиквашвили. Влияние рентгеновского облучения на Na, K-атфазную систему плазматических мембран 353
- დ. ჩიკვაშვილი. რენტგენის სხივების გავლენა პლაზმატური მემბრანების Na, K-ატფაზურ სისტემაზე
- D. V. Chikvashvili. Effect of x-radiation on the plasmatic membrane Na, K-ATPase system

**Краткие сообщения**

**მოკლე წერილები**

**Short communications**

- З. С. Хеладзе. Применение экстракорпоральной перфузии крови через иммуносорбент с целью извлечения из циркулирующей крови микробов и их токсинов 357
- ზ. ხელაძე. იმუნოსორბენტზე სისხლის ექსტრაკორპორალური პერფუზიის გამოყენება ცირკულირებელი სისხლიდან მიკრობებისა და მათი ტოქსინების გამოსალქად.
- Z. S. Kheladze. The use of the extracorporeal perfusion of blood through the immunosorbent in order to extract microbes and their toxins from the circulating blood.

УДК 612.024.612.825

ФИЗИОЛОГИЯ ЧЕЛОВЕКА И ЖИВОТНЫХ

## ПРЕДПОЛАГАЕМЫЕ ПОТЕНЦИАЛЫ ДЕЙСТВИЯ ДЕНДРИТОВ ПИРАМИДНЫХ НЕЙРОНОВ СЕНСОМОТОРНОЙ КОРЫ КОШКИ

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

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

У обездвиженных миорелаксантами кошек в условиях острого опыта при электростимуляции вентро-постеро-латерального ядра таламуса исследовали внутриклеточную активность пирамидных нейронов сенсомоторной коры. Наряду с соматическими потенциалами действия при одиночной и частотной (10/с) стимуляции таламического ядра были зарегистрированы предположительно дендритные спайки, которые характеризовались сравнительно переменной амплитудой (5—60 мВ). Искусственная гиперполяризация нейрона устраняла соматические спайки и не влияла на предположительно дендритные спайки (ДС). Не отмечалось взаимодействия между соматическими и предположительно ДС в случае их одновременного возникновения. Выдвигается предположение, что эти переменные потенциалы действия отражают импульсную активность дендритов пирамидных нейронов со множественной зоной генерации этой активности и обсуждается возможная функциональная роль предположительно ДС.

Относительно импульсной активности дендритов пирамидных нейронов зрелой коры больших полушарий в существующей литературе имеются единичные сообщения [2, 6, 18]. Однако ДС (быстрые препотенциалы, ДС или d-спайки) зарегистрированы при внутриклеточном отведении в других отделах ЦНС: в пирамидных нейронах гиппокампа [3, 19, 22], клетках Пур-

кинье мозжечка [13, 14], хроматолизированных и нормальных мотонейронах спинного мозга [7, 12], нейронах незрелой коры [20], вестибулярных нейронах голубого пятна [25] и др.

В настоящем сообщении приведены экспериментальные данные, указывающие на возможность возникновения потенциалов действия в дендритах пирамидных нейронов новой коры.

### МЕТОДИКА

Опыты проводились как на наркотизированных под легких нембуталовым наркозом (25—30 мг/кг), так и на ненаркотизированных кошках, обездвиженных миорелаксантами. Осуществлялись трахеотомия, обнажение правой сигмовидной извилины и пневмоторакс. Перед наложением пневмоторакса и кураризацией животные переводились на искусственное дыхание. Край операционных ран и участки сдавливания фиксаторами анестезировались новокаином. Наблюдения начинались через два часа после прекра-

щения подачи паров эфира и перевода животных на искусственное дыхание.

Раздражались вентро-постеро-латеральное (ВПЛ) и вентро-латеральное (ВЛ) ядра таламуса (координаты: 9,0; 7,0; 1,0 и 11,0; 4,0; 2,0) по атласу Джаспера и Аймоне-Марсана [11], а также пирамидные пути продолговатого мозга (координаты: 11,0; 1,0; 0) по атласу Рейноза-Суареса [21] — с помощью стереотаксически введенных биполярных (межполюсное расстояние 0,5 мм) константных электродов с фабричной изоля-

цией. Раздражение производилось прямоугольными толчками тока длительностью 0,1—0,5 мс.

Внутриклеточная активность нейронов отводилась посредством стеклянных микроэлектродов, заполненных раствором цитрата калия (2М). Потенциалы от микроэлектрода через катодный повторитель подавались на усилитель постоянного тока и фотографировались с экрана двухлучевого осциллографа. Мембранный потен-

## РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЙ

Внутриклеточные отведения с предположительно ДС были получены от 15 пирамидных нейронов в участке задней сигмовидной извилины, идентифицированных по антидромному возбуждению после стимуляции медуллярных пирамид. МП пирамидных нейронов был равен 50—70 мВ.

На рис. 1 приведена внутриклеточная запись пирамидного нейрона со спонтанными и/или вызванными предположительно ДС. Эти ДС характеризовались переменной и более низкой амплитудой (50—60 мВ) по сравнению с соматическими ПД, возникали либо независимо, либо одновременно с другими ДС или с соматическими ПД (рис. 1: 1, 8, 10). При длительной

циал (МП) нервных клеток контролировался потенциометром КСР-4.

Пропускание деполяризующих и гиперполяризующих толчков постоянного тока осуществлялось через внутриклеточный микроэлектрод с помощью мостовой схемы.

Для идентификации пирамидных нейронов использовали раздражение пирамидных путей на уровне продолговатого мозга [24].

в пирамидных нейронах коры возникал ТПСР длительностью 200—300 мс или последовательность ВПСР-ТПСР. В некоторых случаях в ответ на такую же стимуляцию таламуса в нейронах возникал предположительно

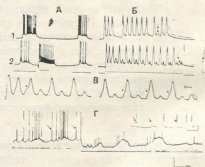


Рис. 2. Влияние внутриклеточного пропуска постоянного тока на предположительно ДС корковых нейронов: А1 — спонтанная активность; А2 — влияние деполяризующего толчка тока; Б — то же на быстрой развертке луча; В — то же, что на А2 и Б2 при более быстрой развертке луча; стрелками обозначены предположительно ДС, треугольником — вершина снопка аксонного холмика (В); МП—60 мВ; глубина регистрации 0,7 мм; Г — другой нейрон при искусственной гиперполяризации; МП—70 мВ; глубина регистрации 2,8 мм; калибровка: 25 мВ на А, Б и В; 50 мс на А и Б; 2 мс на В; 0,8 мА на А2 и Б2; 20 мВ, 5 мс на Г

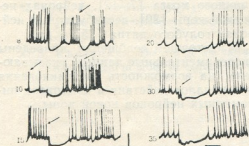


Рис. 1. Внутриклеточная активность пирамидных нейронов сенсомоторной коры кошки при стимуляции ВПЛ ядра таламуса. Цифры слева — время регистрации активности (мм). Стрелками обозначены предположительно ДС. МП—70 мВ; глубина регистрации 2,5 мм; калибровка: 50 мВ, 100 мс

внутриклеточной регистрации нейрона амплитуда этих ДС постепенно уменьшалась (рис. 1, 15—35). На одиночную стимуляцию ВЛ ядра таламуса

ДС, за которым следовал ТПСР. Амплитуда таких вызванных и спонтанных ДС была одинаковой (рис. 1, 30, 35), что указывает на идентичную природу их происхождения.

На рис. 2 приведены внутриклеточные записи двух пирамидных нейронов коры. Фоновая активность (рис. 2, А1) представлена соматическими



ПД и одним предположительно ДС. Пропускание деполяризирующего толчка тока через внутриклеточный микроэлектрод вызывает, наряду с соматическими ПД, возникновение предположительно ДС разной амплитуды (рис. 2, А, Б 2). Запись активности того же нейрона при быстрой развертке луча показывает, что амплитуда этих предположительно ДС значительно отличается от амплитуды начального сегмента аксона (рис. 2, В — обозначены треугольником). При искусственной гиперполяризации нейрона отмечалось исчезновение только соматических ПД, в то время как предположительно ДС сохранялись неизменными по амплитуде даже на фоне увеличенных ВПСП. Соматические и предположи-

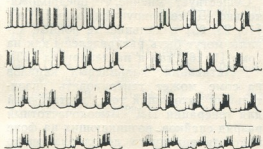


Рис. 3. Внутриклеточная регистрация предположительно ДС пирамидного нейрона коры во время стимуляции ВПЛ ядра таламуса с частотой 10/с. Слева наверху — фоновая активность. Стрелками указаны предположительно ДС. МП—65 мВ; глубина регистрации 1,6 мм; калибровка; 40 мВ, 100 мс

тельно ДС генерировались либо независимо друг от друга, либо ДС генерировался одновременно с соматическими ПД и в этом случае не отмечалось какого-либо взаимодействия (рис. 2, Б 2, В, Г — вставка).

#### ОБСУЖДЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ

В литературе накопилось достаточное количество экспериментальных данных о том, что мембраны дендритов нейронов разных отделов ЦНС позвоночных животных могут генерировать спайковую активность [6, 12, 13, 14, 19, 22]. Длительность предположительно ДС составляет около 2 мс [6]. Амплитуда существенно отличается от амплитуды

На рис. 3 и 4 приведены фрагменты внутриклеточной записи пирамидных нейронов коры при стимуляции ВПЛ ядра таламуса с частотой 10/с. Фоновая активность представлена только соматическими ПД (слева наверху) с амплитудой 80 мВ. При стимуляции ВПЛ ядра таламуса с частотой 10/с в нейронах отмечалось, наряду с соматическими ПД, возникновение вызванных предположительно ДС разной амплитуды в ответ на каждый стимул, а также множественных спонтанных ДС разной амплитуды (40—66 мВ) и высокой частоты на фоне выраженного ВПСП (10—15 мВ) (рис. 3, отмечено стрелками) или одиночных предположительно ДС разной (24—72 мВ) амплитуды (рис. 4, отме-

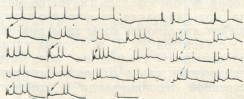


Рис. 4. Возникновение предположительно ДС в пирамидном нейроне новой коры при стимуляции ВПЛ ядра таламуса с частотой 10/с. Слева наверху — фоновая активность; стрелками указаны предположительно ДС; МП—65 мВ; глубина регистрации 1,8 мм; калибровка 40 мВ; 50 мс

чено стрелками). Вслед за высокочастотными разрядами таких спайков развивалась длиннотентная (40—50 мс) гиперполяризация длительностью около 80 мс и амплитудой 15—20 мВ (рис. 3).

спайка начального сегмента клетки; оптимальным условием для генерации ДС является деполяризация клетки до 40—55 мВ [16, 23, 25]. Такая деполяризация МП вызывает локальные ДС по закону «все или ничего», которые могут соответствовать низкоамплитудным спайкам, отводимым из сомы клетки [3].

В данной работе показано, что возникновение ПД в дендритах пирамидных нейронов сенсороторной коры и эти ДС характеризовались вариабельной и более низкой амплитудой по сравнению с соматическими ПД. Предположительно ДС возникали либо спонтанно, независимо друг от друга, либо одновременно с другими соматическими ПД и взаимодействия между ними не отмечалось. Отсутствие взаимодействия между предположительно ДС, возникающими при стимуляции ВПЛ ядра таламуса, и ортодромно вызванными соматическими ПД в быстрых пирамидных нейронах коры также было продемонстрировано [6].

Такие предположительно ДС с большей вероятностью возникали в пирамидных нейронах коры при частотной стимуляции (10/с) в течение 15—20 с специфических ядер таламуса, которая использовалась в качестве метода моделирования самоподдерживающейся активности коры типа пик-волна с частотой 3/с. В некоторых случаях отмечали увеличение количества предположительно ДС во время искусственной деполяризации и угнетение ДС при искусственной гиперполяризации пирамидных нейронов сенсороторной коры [6].

При ионофоретической аппликации ГАМК к нейронам гиппокампа отмечалась деполяризация мембраны, на фоне которой исчезали соматические, но сохранялись предположительно ДС [3], хотя в некоторых случаях не отмечали изменений ДС под действием деполяризующего тока [18]; данное противоречие можно объяснить разной локализацией внутриклеточного микроэлектродов по отношению к соме и дендритам.

Некоторые авторы считают, что в нейронах гиппокампа регистрируемые предположительно ДС являются электротоническим отражением активности соседних нейронов через низкоомные межнейронные несинаптические контакты [15]. Но у позвоночных животных в новой коре не продемонстрировано существование таких контактов. Коэффициент усиления в таких контактах очень мал и прекоактивный

спайк может вызвать деполяризацию в постконтактной мембране амплитудой до 1—5 мВ [5], что противоречит сравнительно высоким амплитудам предположительно ДС.

По литературным данным [22] нейрон имеет триггерные зоны генерации спайков в области аксонного холмика и в области бифуркации апикального дендрита. Последняя усиливает постсинаптические реакции отдаленных дендритных синапсов. Предположительно ДС запускают в общую конечную зону в области аксонного холмика и вовлечения сомы клетки. На основании анализа литературных и собственных данных можно предположить существование множественных зон генерации предположительно ДС в пирамидных нейронах новой коры и других отделах ЦНС.

Существует мнение, что предположительно ДС генерируются ионами  $Ca^{2+}$  [16, 23, 25] и кальциевые ионные каналы могут быть распределены как на соме [1, 16], так и на дендритах [23].

Активация кальциевых каналов на соме может генерировать значительный входящий ток, достаточный для генерации ПД. Высокочастотный разряд спайков, возникающих на фоне постактивационного деполяризующего потенциала, могут представлять  $Ca^{2+}$  спайки, возникающие в дендритах (рис. 3). Активация  $Ca^{2+}$  проводимости приводит к повышению внутриклеточной концентрации  $Ca^{2+}$  и активаций  $Ca^{2+}$  зависимых  $K^+$  токов, вызывающих длительную гиперполяризацию мембраны [10] (рис. 3). Ионные механизмы постактивационного деполяризующего и гиперполяризующего потенциалов зависят от концентрации внеклеточного  $Ca^{2+}$  [9]. Кроме того, повышение внутриклеточной концентрации  $Ca^{2+}$  влияет на внутриклеточный транспорт веществ, на их включение в мембрану и фосфорилирование белков [1], длительную перестройку эффективности синаптической передачи [4], а также может участвовать в механизмах обучения и памяти на основе способности дендритов к увеличению числа  $Ca^{2+}$  каналов при повторяющейся активности [8].

## ЛИТЕРАТУРА

1. Костюк П. Г., Крышталь О. А. Механизмы электрической возбудимости нервной клетки, М., «Наука», 1981.

2. Лабахуа Т. Ш., Кокая М. Г., Окуджава В. М. ДАН СССР, 271, 5, 1271—1273, 1983.



3. Assaf S. Y., Cruneli V., Kelly J. S. *J. Physiol.*, 317, 35, 1981.
4. Baimbridge K. G., Miller J. J. *Brain Res.*, 221, 2, 299—305, 1981.
5. Bennett M. L. In: *Handbook of physiology* Ed. by S. R. Geiger. Sect 1. The nervous system. American Physiology Society. Bethesda, 1977, 305—416.
6. Deschenes M. *Exp. Brain Res.*, 43, 3—4, 304—308, 1981.
7. Eccles J. C., Libet B., Young R. R. *J. Physiol.*, 143, 11—40, 1958.
8. Garcia Ramos J. *Bot. estad. med. J. Biol.*, 31, 3—4, 181—189, 1980.
9. Harada Y., Takahashi T. *Proc. Jap. Acad.*, B 57, 10, 394—397, 1981.
10. Hoston J. R., Price D. A. *J. Neurophysiol.*, 43, 3, 409—419, 1980.
11. Jasper H., Ajmone-Marsan C. In: *Electrical stimulation of the brain*, Austin, 203—231, 1861.
12. Kuno M., Llinas R. *J. Physiol.*, 201, 807—821, 1970.
13. Llinas R., Nickolson C. *J. Neurophysiol.*, 33, 532—551, 1971.
14. Llinas R., Sugimori M., *J. Physiol.*, 305, 197—213, 1980.
15. MacVicar B. A., Dudek F. E. *Science*, 213, 4509, 782—785, 1981.
16. Peacock J. H., Walker C. R. *Dev. Brain Res.*, 8, 1, 39—52, 1983.
17. Precht W., Richter A., Ozawa S., Shimazu N. *Exp. Brain Res.*, 19, 2, 377—393, 1974.
18. Pumain R. *Brain Res.*, 219, 2, 445—450, 1981.
19. Purpura D. A., McMurtry, Leonard C. F., Malliani A. *J. Neurophysiol.*, 29, 5, 954—979, 1966.
20. Purpura D. P., Shafer R. J., Scoff T. *J. Neurophysiol.*, 28, 925—942, 1965.
21. Reinoso—Suarez F. *Topografischer HizrAtlas der katze*. Darmstadt: Merck, 1961, 1265.
22. Spencer W. A., Kandel E. R. *J. Neurophysiol.*, 24, 1, 272—285, 1961.
23. Stafstrom C. E., Schwindt P. C., Chubb M. C., Crill W. E. *J. Neurophysiol.* (Neurophysiol.), 53, 1, 153—170, 1985.
24. Stefanis C., Jasper H. H. *J. Neurophysiol.*, 27, 5, 828—854, 1964.
25. Williams J. T., North R. A., Sheffer S. A., Nishif S., Egan T. M. *Neuroscience*, 13, 1, 137—156, 1984.

ბატის სენსომოტორული კერძის პირამიდულ ნეირონთა დენდრიტების სპაიკაულო მოქმედების პოტენციალები

თ. ლაბახუა, მ. კობახია, ვ. ოპუჯახა

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

რეზიუმე

მიორელაქსანტებით გაუმოძრავებელ კატებზე მწვავე ცდის პირობებში თალამუსის ვენტრო-პოსტერო-ლატერალური ბირთვის ელექტროსტიმულირების დროს შესწავლილ იქნა სენსომოტორული ქერქის პირამიდული ნეირონების უჯრედშიდა აქტივობა. სომატური მოქმედების პოტენციალების გარდა თალამუსის ბირთვების ერთხელობრივი და რიტმული (10/წმ) გაღიზიანებისას აღირიცხა სხვადასხვა ამპლიტუდის მქონე (5—60 მვ) სპაიკები, რომლებიც დენდრიტული წარმოშობისანი უნდა იყვნენ. ჩვენს ცდებში ნეირონის ხელოვნური პიპერპოლარიზაცია თრგუნავდა

და სომატურ სპაიკებს, ხოლო სავარაუდო დენდრიტულ სპაიკებზე არ მოქმედებდა. როცა სომატური და სავარაუდო დენდრიტული სპაიკები ერთდროულად აღმოცენდებოდა, ამ სპაიკების ურთიერთხელოვნება თავს არ იჩენდა. გამოთქმულია მოსაზრება, რომ ჩვენს მიერ აღრიცხული ვარიაბელური მოქმედების პოტენციალები უნდა ასახავდნენ პირამიდულ ნეირონთა დენდრიტების იმპულსურ აქტივობას ნეირონთა მრავალ ზონაში. გამოთქმულია მოსაზრება იმის თაობაზედაც, თუ რა ფუნქციას ასრულებენ ჩვენს მიერ აღრიცხული სავარაუდო დენდრიტული სპაიკები.

PRESUMED DENDRITIC ACTION POTENTIALS IN PYRAMIDAL NEURONS IN  
CAT'S SENSORIMOTOR CORTEX



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

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

S u m m a r y

Intracellular activity of pyramidal neurons of sensorimotor cortex was studied in acute cats immobilized by myorelaxants. Together with the somatic potentials of action during unit and rhythmic stimulation (10/s) of thalamic nucleus presumed dendritic spikes were recorded, characterized by relatively variable amplitude (5-60 mV). Induced hyperpolarization of neurons eliminated somatic spikes and had no effect on the presumed dendritic spikes. There was no interaction between somatic and presumably dendritic spikes in the case of their simultaneous generation. It is suggested that these variable action potentials reflect the impulsive activity of dendrites of pyramidal neurons with multiple zones of generation. A possible functional role of presumably dendritic spikes is discussed.

УДК 612.014.612 825

ФИЗИОЛОГИЯ ЧЕЛОВЕКА И ЖИВОТНЫХ

## РЕАКЦИИ ГЛИАЛЬНЫХ КЛЕТОК СЕНСОМОТОРНОЙ КОРЫ КОШКИ ПРИ АКТИВНОСТИ ТИПА ПИК-ВОЛНА

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

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

В острых опытах на ненаркотизированных кошках, обездвиженных миорелаксантами, в сенсомоторной коре вызывалась самоподдерживающаяся ритмическая активность типа пик-волна (3/с), возникающая в ответ на ритмическое раздражение (8—14/с) в течение 10—20 с вентро-постеро-латерального (ВПЛ) ядра таламуса. Параллельно производилась внутриклеточная регистрация активности глиальных клеток.

Было показано, что в глиальных клетках развивалась деполяризация мембранного потенциала (МП) до 20 мВ на первых же секундах раздражения ВПЛ ядра таламуса, которая сохранялась после выключения раздражения и развития пик-волновой активности.

Через 20—25 с после прекращения пик-волновой активности в глиальных клетках отмечалась реполяризация, а затем гиперполяризация МП в среднем на 15—20 мВ в течение 10—15 с с последующим восстановлением МП до исходного уровня.

Предполагается, что длительные колебания МП глиальных клеток обусловлены изменением концентрации ионов  $K^+$  во внеклеточной среде при развитии и прекращении ритмической активности типа пик-волна.

О механизмах формирования и развития самоподдерживающейся ритмической активности типа пик-волна, являющейся одним из важных электрографических эпилептических феноменов, существуют различные мнения [4, 7, 10, 15].

Относительно внутриклеточной реакции глиальных клеток во время самоподдерживающейся ритмической ак-

тивности типа пик-волна в существующей литературе нет данных.

Изучение активности глиальных клеток, так же как и нервных, во время самоподдерживающейся ритмической активности типа пик-волна должно внести определенную ясность в вопрос о клеточных механизмах этой активности.

### МЕТОДИКА

Исследования проводились на обездвиженных миорелаксантами кошек в условиях острого опыта. Подготовка животных к опытам (трахеотомия, обнажение правой сигмовидной извилины и двусторонний пневмоторакс) осуществлялась под эфирным наркозом. Края ран и участки сдавливания фиксаторами анестезировались новокаином. Животные переводились на искусственное дыхание. Регистрация глиальных клеток производилась че-

рез два часа после прекращения подачи паров эфира.

Раздражалось ВПЛ ядро таламуса (координаты: 9,0; 7,0; 1,0) по атласу Джаспера и Аймоне-Марсана [9] с помощью стереотаксически ориентированных биполярных (межполюсное расстояние 0,5 мм) константановых электродов с фабричной изоляцией. Раздражение производилось прямоугольными толчками тока длительностью до 0,5 мс.



Для отведения ЭКОГ активности применялся хлор-серебряный неполяризуемый электрод, который соприкасался с препаратом посредством фитилька, смоченного физиологическим раствором и агарового мостика. Отведение было монополярным.

Внутриклеточная активность глиальных клеток отводилась с помощью стеклянных микроэлектродов, заполненных раствором цитрата калия (2 моль/л). Потенциалы от микро- и макроэлектродов через катодные повторители подавались на усилители постоянного тока и фотографировались с экрана двухлучевого осциллографа. МП глиальных клеток контролировался потенциометром КСП-4.

### РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЙ

В участке задней сигмовидной извилины внутриклеточные отведения были получены от 10 глиальных клеток во время ритмической активности типа пик-волна. МП зарегистрированных глиальных клеток был равен 80—100 мВ.

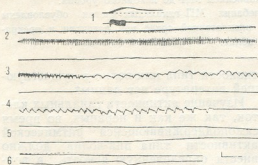


Рис. 1. ЭКОГ коры при самоподдерживающейся ритмической активности и соответствующая ей реакция глиальной клетки коры: МП—90 мВ, глубина регистрации—2,2 мм; 1—идентификация глиальной клетки (45В; 0,5 мс, 50/с); 2—фон и начало стимуляции; 3—6—продолжение записи активности. Параметры раздражения для вызывания самоподдерживающейся активности: 45 В; 0,5 мс, 12/с. Калибровка: 10 мВ для микро- и 2 мВ для макроотведения, 1 с

На рис. 1 и 2 приведены изменения МП при внутриклеточной регистрации глиальных клеток коры во время самоподдерживающейся ритмической активности типа пик-волна. В глиаль-

ных клетках деполяризация развивалась по высокому МП, медленной деполяризации, вызванной тетаническим раздражением ВПЛ ядра таламуса, и отсутствию синаптических потенциалов и потенциалов действия (ПД), как в фоновой записи, так и в ответ на различные раздражения, включая и непосредственное электрическое раздражение клетки путем пропускания деполяризующего толчка тока.

Самоподдерживающаяся ритмическая активность типа пик-волна вызывалась раздражением ВПЛ ядра таламуса с частотой 8—14/с в течение 10—20 с силой достаточной интенсивности [16].

Внутриклеточные потенциалы глиальной клетки при развитии самоподдерживающейся ритмической активности типа пик-волна: 1—фон и начало раздражения; 2—4—продолжение записи активности; стрелки—начало и конец стимуляции ВПЛ ядра таламуса; точки—прекращение пик-волновой активности; а—идентификация глиальной клетки (40 В, 0,5 мс, 50/с). А: МП—80 мВ, глубина регистрации—1,9 мм; параметры раздражения—50 В, 0,5 мс, 10/с. Б: МП—90 мВ, глубина регистрации—2,3 мм; параметры раздражения—45 В, 0,5 мс, 12/с. Калибровка: А—10 мВ, 2с; Б—20 мВ, 1с

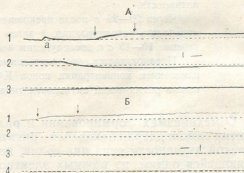


Рис. 2. Внутриклеточные потенциалы глиальной клетки при развитии самоподдерживающейся ритмической активности типа пик-волна: 1—фон и начало раздражения; 2—4—продолжение записи активности; стрелки—начало и конец стимуляции ВПЛ ядра таламуса; точки—прекращение пик-волновой активности; а—идентификация глиальной клетки (40 В, 0,5 мс, 50/с). А: МП—80 мВ, глубина регистрации—1,9 мм; параметры раздражения—50 В, 0,5 мс, 10/с. Б: МП—90 мВ, глубина регистрации—2,3 мм; параметры раздражения—45 В, 0,5 мс, 12/с. Калибровка: А—10 мВ, 2с; Б—20 мВ, 1с

20 мВ после выключения раздражения и развития самоподдерживающейся ритмической активности (рис. 1). Каких-либо значительных ритмичес-

ких колебаний МП в это время не наблюдалось (рис. 2 А, Б). В дальнейшем, после прекращения самоподдерживающейся ритмической активности типа пик-волна в глиальных клетках наблюдалась реполяризация МП в течение 13—20 с (рис. 1 и 2 Б), его гиперполяризация в среднем на 15—20 мВ в течение 10—15 с (рис. 1 и рис. 2А) и восстановление до исходного уровня через 20—22 с от начала раздражения (рис. 2 А, Б).

Усредненные данные изменений МП глиальных клеток во время самоподдерживающейся ритмической активности типа пик-волна приведены на графике (рис. 3). Время стимуляции ВПЛ ядра таламуса составляло в среднем  $9,76 \pm 6,10$  с ( $n=10$ ). Среднее время самоподдерживающейся пик-волновой активности составляло  $14,80 \pm 9,94$  с после прекращения раздражения. Как видно из графика, во время стимуляции в глиальных клетках примерно к 8 с отмечалась деполаризация на 26% от исходного. После прекращения раздражения ВПЛ ядра таламуса и развития самоподдерживающейся ритмической пик-волновой активности глиальные клетки оставались деполаризованными. После

прекращения самоподдерживающейся ритмической активности типа пик-волна глиальные клетки оставались деполаризованными.

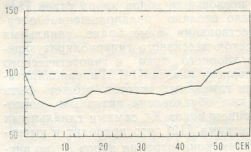


Рис. 3. Графическое выражение изменений МП глиальных клеток во время самоподдерживающейся ритмической активности типа пик-волна: абсцисса—время (с) после начала стимуляции; ордината—величина МП в % к исходному уровню, принятому за 100%. Усреднение производилось через каждые 2,5 с; стрелками обозначены конец стимуляции и самоподдерживающейся ритмической активности. Данные обработаны и выражены графически на компьютере РС - 1500

ляризованными до 50 с от начала стимуляции, затем развивалась гиперполяризация в среднем на 9%.

## ОБСУЖДЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ

Все проанализированные корковые клетки с относительно высоким МП проявляли признаки, характерные для глиальных клеток [1, 2, 3, 11, 13, 14, 17]. В частности, при проколе клетки микроэлектродом не отмечались разряд повреждения, спонтанные постсинаптические потенциалы и ПД; при пропускании деполаризирующих толчков тока через регистрируемый микроэлектрод не возникал ПД. Глиальная клетка не отвечала даже на очень сильную одиночную стимуляцию ВПЛ ядра таламуса, а при его частотной стимуляции появлялась медленная деполаризация [1, 13]. При ритмической стимуляции ВПЛ ядра таламуса с вовлечением в реакцию все большего числа корковых и таламических нейронов начинали преобладать возбуждающие синаптические влияния [6] и в глиальных клетках, по всей вероятности поэтому, отмечалась значительная деполаризация вследствие аккумуляции ионов  $K^+$ , выделившихся в

межклеточное пространство из возбужденных соседних элементов [13]. После прекращения стимуляции формируется самоподдерживающаяся ритмическая активность типа пик-волна и в глиальных клетках не регистрируются какие-либо значительные ритмические колебания МП, коррелирующие с комплексом пик-волны, что свидетельствует о нейрональном генезе этих потенциалов. Очевидно, глиальные клетки пассивно отражают увеличение концентрации ионов  $K^+$  в межклеточной среде и поэтому деполаризованы.

Как уже отмечалось, после прекращения самоподдерживающейся ритмической активности в глиальных клетках отмечалась гиперполяризация МП, которая может быть обусловлена активацией  $Na^+$ ,  $K^+$  электрогенного насоса нейронов [14]. Однако по литературным данным [1, 14] не обнаружено корреляции во времени между продолжительностью гиперполяризации

нейрона и глиальной клетки. На основании некоторых фактов (усиление метаболизма глиальных клеток с увеличением концентрации ионов  $K^+$  [8] и поглощение ионов хлора глияй [5]) было сделано предположение о существовании в мембране глиальных клеток пассивного гиперполяризующего хлорного тока и гипотетического хлорного насоса [14]. Гиперполяризация глиальных клеток может быть также обусловлена активным поглощением ионов  $K^+$  самими глиальными клетками [12], что приводит к уменьшению концентрации ионов  $K^+$  во внеклеточной среде ниже 3 ммоль/л, а сигналом для включения механизма

гиперполяризации может быть увеличение концентрации ионов  $K^+$  в межклеточной щели [14].

Таким образом, длительные деполяризационные и гиперполяризационные сдвиги МП глиальных клеток новой коры, возникающие во время и после тетанических раздражений ВПЛ, вероятно, пассивно отражают изменения концентрации ионов  $K^+$  в межклеточной среде, и такие изменения концентраций ионов  $K^+$  могут играть определенную роль в процессах формирования и прекращения самоподдерживающейся ритмической активности типа пик-волна.

## ЛИТЕРАТУРА

1. Лабахуа Т. Ш., Бекая Г. Л., Окуджава В. М. Нейрофизиология, 14, 248—253, 1982.
2. Окуджава В. М., Лабахуа Т. М., Кокая М. Г. Тез. Всес. конф., посвященной 100-летию со дня рождения академика И. С. Бериташвили, Изд-во ТГУ, Тбилиси, 1985, 133.
3. Ройтбак А. И., Фанарджян В. В. ДАН СССР, 211, 748—751, 1973.
4. Avoli M., Gloor P., Kostopoulos G., Gotman J. J. Neurophysiol., 50, 819—837, 1983.
5. Burke R. S., Nelson K. M., Naumann R. A., Joung O. M. Exp. Brain Res., 10, 427—445, 1980.
6. Dempsey E. W., Morrison R. S. Amer. J. Physiol., 138, 292—308, 1942.
7. Gloor P., Pelegriani A., Kostopoulos G. K. Electroencephal. Clin. Neurophysiol., 46, 224—289, 1979.
8. Hertz G. J. Neurochem., 13, 1373—1387, 1966.
9. Jasper H., Ajmone-Marsan C. In: Electrical stimulation of the brain, Austin, 1961, 203—231.
10. Kostopoulos G., Avoli M., Gloor P. Brain Res., 267, 101—112, 1983.
11. Karahashi G., Golding S. Electroencephal. Clin. Neurophysiol., 20, 600—607, 1966.
12. Orkand R. K., Colles J. A., Tsacopoulos M. Abstr. Symposium of functions of Neuroglia, Tbilisi, 1984, 13.
13. Ransom B. R., Golding S. J. Neurophysiol., 36, 869—878, 1973.
14. Ransom B. R., Golding S. J. Neurophysiol., 36, 879—892, 1973.
15. Steriade M., Jossif G. Electroencephal. Clin. Neurophysiol., 37, 633—648, 1974.
16. Steriade M., Oakson G., Diallo A. Electroencephal. Clin. Neurophysiol., 41, 641—644, 1976.
17. Sugaga E., Golding J. L., O'Lesry J. I. Electroencephal. Clin. Neurophysiol., 17, 661—699, 1964.

კატის სენსომოტორული ქერძის კიკ-ტალღოვანი რიტმული აქტივობის დროს გლიური უჯრედების რეაქციები

თ. ლაბახუა, მ. კობაია, ვ. რაჭუაია

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

რ ე ზ ი უ მ ე

მიორელაქსანტებით გაუმოძრაებელ კატებზე შწვავე ცდის პირობებში თალამუსის ვენტრო-პოსტერო-ლატერალური ბირ-

თვის სიხშიროვანი (8—14 წმ 10—20 წმ-ის განმავლობაში) გალიზიანების საბასუხოდ სენსომოტორულ ქერქში აღმოცენ-



დებოდა პიკ-ტალღოვანი რიტმული აქტივობა. პარალელურად ხდებოდა გლიური უჯრედების უჯრედშუა რეგისტრირება.

აღმოჩნდა, რომ ცდის ამ პირობებში გლიურ უჯრედებში, გალიზიანების პირველსავე წამებში ვითარდება მემბრანული პოტენციალის დეპოლარიზაცია, საშუალოდ 20 მვ-ით, რომელიც თავს იჩენს გალიზიანების შეწყვეტის შემდეგაც და პიკ-ტალღოვანი აქტივობის განვითარების პერიოდშიც.

პიკ-ტალღოვანი აქტივობის შეწყვეტიდან 20—25 წმ-ის შემდეგ ხდება გლიური

უჯრედების რეპოლარიზაცია, ხოლო შემდეგ—მემბრანული პოტენციალის ჰიპერპოლარიზაცია 15—20 მვ-ით 10—15 წმ-ის განმავლობაში და ბოლოს — ამ პოტენციალის სრული აღდგენა.

გამოთქმულია მოსაზრება, რომ გლიური უჯრედების მემბრანული პოტენციალის ხანგრძლივი ძვრები გამოწვეული უნდა იყოს  $K^+$ -ის იონთა კონცენტრაციის ცვლილებით უჯრედშორის არეში, რომელიც ხდება პიკ-ტალღოვანი რიტმული აქტივობის განვითარებისას და ამ აქტივობის შეწყვეტის დროს.

## REACTIONS OF GLIAL CELLS OF CAT'S SENSORIMOTOR CORTEX DURING SPIKE-AND-WAVE ACTIVITY

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

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

### S u m m a r y

In acute cats, immobilized by myorelaxants, self-sustained spike-and-wave rhythmic activity of the sensorimotor cortex was elicited after repetitive (8—14/sec during 10—20 sec) stimulation of the ventro-postero-lateral nucleus of the thalamus. At the same time, intracellular recording of glial cell was performed.

At the beginning of stimulation glial cells were shown to depolarize by some 20 mV and remain depolarized after cessation of stimulation, when there deve-

loped spike - and - wave rhythmic activity

After 20-25 sec of the spike-and-wave activity termination the repolarization and subsequent hyperpolarization by 15-20 mV during 10-15 sec and recovery of membrane potential (MP) of glial cells were observed.

It is suggested that long-lasting alterations of glial cell MP is due to changes of  $K^+$ -100 w concentration in the extracellular space during the development and termination of spike-and-wave rhythmic activity in the cortex.

УДК 612.015.31 : 541.135.11/14

## ДИНАМИКА ИЗМЕНЕНИЯ СОДЕРЖАНИЯ АЛЬДОСТЕРОНА И РЕНИНА В КРОВИ У КРОЛИКОВ ПРИ БОЛЕВОМ СТРЕССЕ

Н. А. Гзиришвили, Ц. Г. Хухунешвили, Л. А. Камараули

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

Поступила в редакцию 20.12.1984

У кроликов в состоянии стресса, вызванного болевым раздражением, методом радиоиммунного анализа определялась концентрация альдостерона и ренина в плазме крови с одновременным изучением содержания ионов натрия и калия. Наблюдения проводились до и через 5, 15, 30, 60, и 120 мин после нанесения болевого раздражения. Показано, что через 5 мин после действия раздражителя концентрация альдостерона и ренина по сравнению с исходными данными уменьшается, а с 30 мин начинает увеличиваться. Особенно резкие изменения наблюдаются через 120 мин после раздражения. Концентрация натрия в течение 5—60 мин не изменяется, тогда как через 120 мин она статистически достоверно, увеличена; концентрация калия понижена на всех этапах наблюдения.

Выявляемые изменения рассмотрены в связи с возбуждением гипоталамо-нейрогипофизарной системы, совместно с которой альдостерон и ренин регулируют электролитный гомеостаз. Не исключено также, что супраоптико-нейрогипофизарная система принимает участие и в других метаболических процессах, направленных на элиминацию последствий стрессорного воздействия.

В литературе имеются единичные данные об изменении активности супраоптико-нейрогипофизарно-надпочечниковой системы при эмоциональном стрессе, вызванном болевым или каким-либо другим стрессорным раздражителем. Одни авторы отмечают усиление активности АДГ-вазопрессина в крови и задержку диуреза [10, 11, 12], другие — альдостерона и ренина, фермента юкстагломерулярного аппарата, переводящего пептидный гормон ангиотензин I в ангиотензин 2 [1, 8]. Из литературных источников также известно, что между вышеуказанными гормонами существует сложная взаимозависимость, в которой соотношения ионов натрия и калия имеют особенное значение. Если увеличение осмотичности или повышение концентрации натрия в крови является основным условием для выделения вазопрессина [15], то в этих условиях

выделение ренина заторможено [9]. Следовательно, при увеличении концентрации вазопрессина в крови происходит угнетение выделения ренина [7, 13, 14]. Но ангиотензин 2, введенный в третий желудочек мозга, вызывает чувство жажды и стимуляцию секреции вазопрессина [6]. Если взаимодействие этих гормонов в поддержании водно-электролитного гомеостазиса сравнительно хорошо изучено, то при других стрессорных состояниях этот вопрос пока недостаточно изучен, в частности при эмоциональном стрессе, вызванном болью. Недостаточно изучены также характер секреции этих гормонов при болевом раздражении, их основная функция — регуляция электролитного равновесия в крови, значение этих гормонов в адаптации организма.

Исходя из вышесказанного, целью настоящего исследования является

изучение динамики изменения секреции альдостерона и ренина в плазме крови с одновременным наблюдением

за изменением концентрации натрия и калия у кроликов при стрессе в ванном болевом раздражении кожи

## МАТЕРИАЛ И МЕТОДИКА ИССЛЕДОВАНИЯ

Опыты проводились на кроликах-самцах породы шиншилла весом 3—3,5 кг. Содержание альдостерона и ренина в плазме крови определяли методом радиоиммунного анализа с использованием наборов фирмы Seajre-Sorin (Франция). Концентрация натрия и калия определялась пламенно-фотометрически, методом Бриккера, описанным ранее [2, 3, 4]. Кровь бралась из ушной вены до и через 5, 15, 30, 60 и 120 мин после нанесения болевого раздражения, вызываемого электрическим раздражением кожи

при помощи латунных пластинок, прикладываемых к коже задних конечностей. Раздражение проводили прямоугольными импульсами при частоте 80 Гц в течение 30—50 с (электростимулятор ЭСЛ-2). Показателем болевого ощущения служили крик и попытка животного вырваться из клетки, дефекация и мочеиспускание.

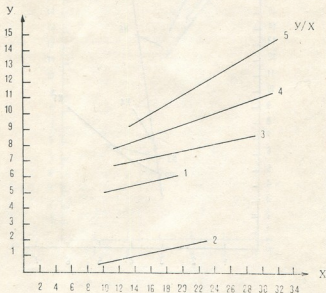
Полученные результаты обрабатывались методами вариационной статистики, с применением регрессионного и корреляционного анализов.

## РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЙ

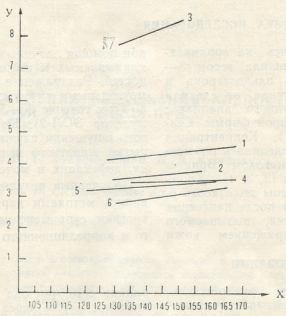
Нанесение болевого раздражения, по нашим данным, вызывает увеличение концентрации ренина в плазме крови по сравнению с исходными данными через 30, 60 и 120 мин. Однако концентрация ренина не изменяется через 5 и 15 мин после действия раздражителя. Концентрация альдостерона в плазме крови сперва уменьшена,

однако с 15 мин она начинает увеличиваться и уже через 30, 60 и 120 мин увеличение статистически достоверно (таблица). Как показал регрессионный анализ, зависимость между альдостероном и ренином особенно четко меняется через 60 и 120 мин после раздражения. Об этом говорят изменения линии регрессии через 60 и

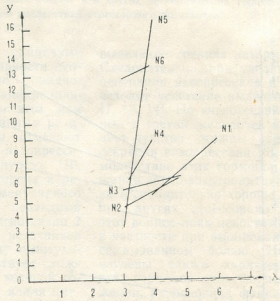
А



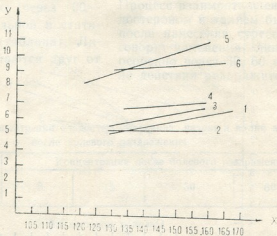
Б



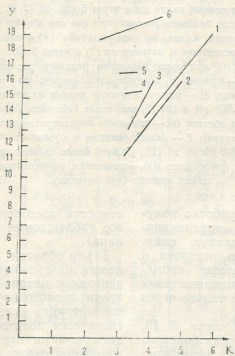
Б



Г



Д



12234

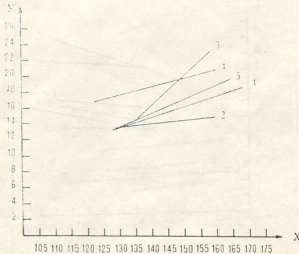


Рис. 1. Линии регрессии взаимоотношения: А — между альдостероном и ренином до (1) и через 5 (2), 30 (3), 60 (4) и 120 (5) мин после болевого раздражения (по оси абсцисс (x) — изменения концентрации ренина, по оси ординат (y) — альдостерона); Б — между ионами натрия и калия до (1) и через 5 (2), 15 (3), 30 (4), 60 (5) и 120 (6) мин после нанесения болевого раздражения (по оси абсцисс (x) — изменения концентрации натрия, по оси ординат (y) — калия); В — между альдостероном и ионами калия до и через 5 (2), 15 (3) 30 (4), 60 (5) и 120 (6) мин после болевого раздражения (по оси абсцисс (x) — изменения концентрации калия, по оси ординат (y) — альдостерона); Г — между альдостероном и натрием до (1) и через 5 (2), 15 (3) 30 (4), 60 (5) и 120 (6) мин после нанесения болевого раздражения (по оси абсцисс (x) — изменения концентрации натрия, по оси ординат (y) — альдостерона); Д — между ренином и ионами калия до (1) и через 5 (2), 30 (3), 60 (4) и 120 (5) мин после нанесения болевого раздражения (по оси абсцисс (x) — изменения концентрации калия, по оси ординат (y) — ренина); Е — между ренином и ионами натрия до (1) и через 5 (2), 30 (3), 60 (4) и 120 (5) мин после нанесения болевого раздражения (по оси абсцисс (x) — изменения концентрации натрия, по оси ординат (y) — ренина)

120 мин (рис. 1 А). Обработка полученных данных методом корреляционного анализа выявила слабую связь между показателями альдостерона и ренина во все наблюдаемые промежутки времени. Корреляционная связь статистически достоверна только через 60 и 120 мин (таблица).

Концентрация натрия через 5, 15, 30 и 60 мин после нанесения болевого раздражения не меняется. Затем происходит увеличение концентрации, которая становится статистически достоверной только через 120 мин. Концентрация калия однако после нанесения болевого раздражения статисти-

чески достоверно уменьшается во все наблюдаемые нами периоды (таблица).

Таким образом, после нанесения болевого раздражения изменение концентрации натрия и калия в плазме крови происходит разнонаправленно: концентрация калия уменьшается статистически достоверно во все наблюдаемые нами периоды, концентрация же натрия сперва не меняется и только через 120 мин увеличивается.

Корреляционная связь между показателями натрия и калия слабая, но статистически достоверна в исходном состоянии и через 15 мин после нане-

сения болевого раздражения; в следующие периоды наблюдения связь не выявляется и только через 60—120 мин становится сильной и статистически достоверной (таблица). Линии регрессии не отличаются друг от друга (рис. 1Б).

тоянии, так и через 5, 15, 30, 60 и 120 мин после нанесения стрессора. Процесс взаимоотношения между альдостероном и калием быстро меняется после нанесения стрессора. Об этом говорят изменения линии регрессии, особенно через 30, 60 и 120 мин после действия раздражителя (рис. 1В).

Таблица 1

Изменение концентрации альдостерона, ренина, натрия и калия до и после болевого раздражения

| Показатели вариационной обработки   | Исходная концентрация | Концентрация после болевого раздражения, мин |                     |                           |                     |                     |
|-------------------------------------|-----------------------|--|---------------------|---------------------------|---------------------|---------------------|
|                                     |                       | 5  | 15                  | 30                        | 60                  | 120                 |
| Альдостерон п/моль/л                |                       |  |                     |                           |                     |                     |
| $x \pm m_x$                         | $5,66 \pm 0,5$        | $5,12 \pm 0,66$                              | $5,35 \pm 0,46$     | $6,54 \pm 0,65$           | $8,04 \pm 3,75$     | $9,58 \pm 2,66$     |
| $b \pm m_b$                         | $1,93 \pm 0,8$        | $2,49 \pm 0,45$                              | $1,74 \pm 0,31$     | $2,44 \pm 0,5$            | $3,75 \pm 0,6$      | $3,91 \pm 0,71$     |
| $x \pm 2b$                          | $2,86 \pm 8,4$        | $0,15 \div 10,89$                            | $1,66 \div 11,7$    | $1,35 \div 11,7$          | $0,99 \div 15,9$    | $0,33 \div 18,8$    |
| P                                   |                       | 3,0<br>$P < 0,001$                           | 1,55<br>$P < 0,15$  | 2,49<br>$0,05 < P < 0,02$ | 3,8<br>$P < 0,001$  | 4,66<br>$P < 0,001$ |
| Ренин нг/мл/ч                       |                       |  |                     |                           |                     |                     |
| $x \pm m_x$                         | $3,84 \pm 0,39$       | $3,79 \pm 0,34$                              | $3,85 \pm 0,312$    | $5,15 \pm 0,45$           | $5,4 \pm 0,53$      | $5,75 \pm 0,6$      |
| $b \pm m_b$                         | $1,3 \pm 0,26$        | $1,13 \pm 0,23$                              | $1,03 \pm 0,21$     | $1,5 \pm 0,9$             | $1,77 \pm 0,35$     | $1,99 \pm 0,41$     |
| $x \pm 2b$                          | $1,24 \div 6,44$      | $1,52 \div 6,06$                             | $1,8 \div 5,92$     | $2,14 \div 8,14$          | $1,86 \div 8,93$    | $1,78 \div 8,8$     |
| P                                   |                       | 0,13<br>$P < 0,9$                            | 0,14<br>$P < 0,9$   | 8,79<br>$P < 0,001$       | 4,6<br>$P < 0,001$  | 8,5<br>$P < 0,001$  |
| Натрий м/моль/л                     |                       |  |                     |                           |                     |                     |
| $x \pm m_x$                         | $140,8 \pm 8,7$       | $139 \pm 2,77$                               | $141,36 \pm 3,35$   | $141,2 \pm 3,96$          | $146,4 \pm 6,6$     | $153,5 \pm 5,7$     |
| $b \pm m_b$                         | $13,09 \pm 2,56$      | $9,39 \pm 1,84$                              | $9,53 \pm 2,23$     | $10,49 \pm 2,62$          | $17,4 \pm 4,36$     | $12,91 \pm 3,7$     |
| $x \pm 2b$                          | $113,8 \div 167,7$    | $119 \div 158,3$                             | $123,8 \div 159,6$  | $125,2 \div 157,2$        | $113,9 \div 178,5$  | $131,6 \div 175,3$  |
| P                                   |                       | 1,43<br>$P < 0,1$                            | 0,14<br>$P < 0,9$   | 0,17<br>$P < 0,8$         | 1,21<br>$P < 0,1$   | 3,81<br>$P < 0,001$ |
| Калий м/моль/л                      |                       |  |                     |                           |                     |                     |
| $x \pm m_x$                         | $4,13 \pm 0,05$       | $3,74 \pm 0,15$                              | $3,71 \pm 0,23$     | $3,56 \pm 0,13$           | $3,42 \pm 0,13$     | $3,7 \pm 0,15$      |
| $b \pm m_b$                         | $0,19 \pm 0,03$       | $0,52 \pm 0,1$                               | $0,65 \pm 0,15$     | $0,29 \pm 0,08$           | $0,29 \pm 0,08$     | $0,5 \pm 0,1$       |
| $x \pm 2b$                          | $4,61 \div 3,65$      | $2,67 \div 4,8$                              | $2,45 \div 4,95$    | $3,04 \div 4,0$           | $2,9 \div 3,9$      | $2,6 \div 4,8$      |
| P                                   |                       | 3,3<br>$0,05 < P < 0,02$                     | 4,08<br>$P < 0,001$ | 2,81<br>$0,02 < P < 0,01$ | 4,45<br>$P < 0,001$ | 15<br>$P < 0,001$   |
| Показатели корреляционной обработки |                       |  |                     |                           |                     |                     |
| $r \pm m_r$                         |                       |  |                     |                           |                     |                     |
| Ал+рен                              | $0,23 \pm 0,3$        | $0,4 \pm 0,16$                               | $0,2 \pm 0,3$       | $0,2 \pm 0,1$             | $0,3 \pm 0,2$       | $0,47 \pm 0,2$      |
| Ал+Na                               | $0,3 \pm 0,28$        | $0,2 \pm 0,3$                                | $0,05 \pm 0,4$      | $0,03 \pm 0,3$            | $0,34 \pm 0,38$     | $0,03 \pm 0,4$      |
| Ал+К                                | $0,5 \pm 0,02$        | $0,5 \pm 0,2$                                | $0,2 \pm 0,44$      | $0,4 \pm 0,4$             | $1,1 \pm 0,2$       | $0,08 \pm 0,2$      |
| Рен+Na                              | $0,4 \pm 0,3$         | $0,1 \pm 0,3$                                | $0,3 \pm 0,2$       | $0,5 \pm 0,2$             | $0,07 \pm 0,2$      | $0,58 \pm 0,2$      |
| Рен+К                               | $0,4 \pm 0,3$         | $0,36 \pm 0,3$                               | $0,20 \pm 0,48$     | $0,25 \pm 0,4$            | $0,06 \pm 0,15$     | $0,2 \pm 0,4$       |
| Na+К                                | $0,4 \pm 0,2$         | $0,23 \pm 0,7$                               | $0,5 \pm 0,3$       | $0,1 \pm 0,4$             | $0,5 \pm 0,1$       | $0,5 \pm 0,43$      |

Наблюдается разное взаимоотношение вышеуказанных гормонов с электrolитами.

Особая связь выявляется между альдостероном и ионами калия. Коэффициент регрессии  $y/x$  и  $x/y$  статистически достоверен как в исходном со-

Между альдостероном и натрием выявляется слабая корреляционная связь только в исходном состоянии, в остальные периоды корреляционной связи нет (таблица). Линии регрессии тоже не отличаются друг от друга (рис. 1Г).

Между ренином и ионами калия является статистически достоверная корреляционная связь в исходном состоянии и уже через 5 мин после действия раздражения; в остальные периоды связь слабая и недостоверная. Линии регрессии меняются через 30, 60 и 120 мин (рис. 1 Д), что говорит об изменении процесса взаимоотношения между этими показателями.

## ОБСУЖДЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ

Как показали наши данные, стрессреакция, вызванная электрическим раздражением кожи в стадии тревоги, сопровождается изменением содержания альдостерона и ренина в плазме крови. Эти гормоны вместе с АДГ-вазопрессином, гормоном нейрогипофизарной системы, составляет единое целое в регуляции водно-электролитного гомеостаза, удерживая концентрацию натрия и калия в плазме крови на оптимальном уровне и при болевом раздражении. По нашим данным альдостерон и ренин выявляют корреляционную связь с ионами натрия и калия, но после действия болевого раздражения чувствительность этих гормонов к ионам калия выявляется сильнее, чем к ионам натрия. Это можно объяснить тем, что с наступлением стрессреакции концентрация ионов калия в плазме крови уменьшается во все наблюдаемые нами периоды и удержание ее на оптимальном уровне более необходимо, чем концентрации натрия, которая сперва не изменяется и увеличивается только через 120 мин после действия раздражителя. Может быть, этот факт каким-то образом связан с другим процессом.

Группа авторов [8], изучавшая активность ренина при психо-социальном стимуле у крыс (помещали их в ящик, разделенный прозрачной стенкой на два отдела, в присутствии голодного кота), наблюдала сильное увеличение активности ренина в плазме крови. Полученные авторами данные объясняются сужением почечных сосудов,

Между ренином и ионами натрия выявляется сильная корреляционная связь в исходном состоянии и через 120 мин после действия раздражения. В промежутке между этими периодами корреляционная связь становится слабой; линия регрессии меняется только через 30 мин после болевого раздражения.

вызванным разными веществами, которые выделяются в ответ на возбуждение симпато-адреналовой системы [8]. Наряду с возбуждением симпато-адреналовой системы в этих условиях допустимо и возбуждение гипоталамо-нейрогипофизарной системы, отмечаемое в литературе при болевом стрессе [10]. Усиление выделения вазопрессина, альдостерона и ренина во время болевого стресса указывает на участие гипоталамо-нейрогипофизарно-надпочечниковой системы в стрессе, вызванном болевым раздражением.

Кроме электролитного перераспределения, эти гормоны, видимо, включаются и в другие метаболические сдвиги, направленные против болевого раздражения, в частности в усиление действия эндогенных опиатов. Это мнение поддерживается экспериментальными данными Росснер и соавт. [13], которые нашли энкефалинергические связи, содержащие опиодные пептиды между супраоптическими и паравентрикулярными ядрами гипоталамуса и нейрогипофизом. Авторы предполагают, что лейцин энкефалин при стрессе высвобождается вместе с вазопрессином, который модулирует его действие.

Таким образом, наши данные показали, что в развитии общего адаптационного синдрома организма, наряду с симпато-адреналовой и гипоталамо-аденогипофизарной, принимает участие и гипоталамо-нейрогипофизарно-надпочечниковая система.





1. Афонии В. В., Орлов Л. Л., Кали-  
та Н. Ф., Витинг Т. А., Тигранян  
Р. А. Космическая биология и авиакос-  
мическая медицина, **16**, 3, 13—16, 1982.
2. Бриджер В. Н. В сб.: Нарушение  
электролитного обмена при сердечно-  
сосудистых заболеваниях, «Медицина»,  
Л., 1965, 51—71.
3. Гзиршвили Н. А. Изв. АН ГССР,  
сер. биол., **3**, 2, 115—123, 1977.
4. Гзиршвили Н. А. Изв. АН ГССР,  
сер. биол., **6**, 6, 485—492, 1980.
5. Лакин Г. Ф. Биометрия, «Высшая шко-  
ла», М., 1968.
6. Anderson B. Ann. Rev. Physiol., **39**,  
185—200, 1977.
7. Clamage D. M., Sanford Ch., Van-  
der A. J., Mow D. R. Amer. J. Phy-  
siol., **231**, 4, 1290—1294, 1976.
8. Bunag K. D. Cardiovascular Res., **1**,  
67—73, 1967.
9. Davis J. O., Freeman R. H. Phy-  
siol. Rev., **56**, 1, 2—44, 1976
10. Mirsky A. B. Arch. Neurol. Psychiat.,  
**73**, 1, 135—137, 1955.
11. O'Connor W. J., Verney E. Q. J.  
Exp. Physiol., **31**, 393—396, 1942.
12. Rydin H., Verney E. Q. J. Exp.  
Physiol., **34**, 235—260, 1972.
13. Rossier J., Pittman Q., Bloom  
F., Guillemin R. Fed. Proc., **39**, 8,  
2555—2560, 1980.
14. Tagawa H., Vander A. J., Bonj-  
our J.—P., Malvin R. L. Amer. J.  
Physiol., **220**, 4, 949—951, 1971.
15. Verney E. B. Proc. Roy. Soc. B., **135**,  
25—106, 1947.

გოცრვაბის სისხლში ალდოსტერონისა და რენინის ცვლილებების  
დინამიკა ტკივილით გამოწვეული სტრესის დროს

ბ. ზაირაშვილი, ვ. ხუბუნიანი, ლ. ყაბარაული

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

რ ე ზ ი უ მ ე

ზოცვრების სისხლში, მტკივნეული გა-  
ლიზიანებით გამოწვეული სტრესული  
მდგომარეობის დროს, განგაშის სტადია-  
ში, რადიოიმუნოლოგიური მეთოდით  
შესწავლილ იქნა ალდოსტერონისა და რე-  
ნინის კონცენტრაცია, ნატრიუმისა და კა-  
ლიუმის შემცველობასთან ერთად. და-  
კვირვება წარმოებდა მტკივნეულ გაღიზიან-  
ებამდე და გაღიზიანებიდან 5, 15, 30, 60  
და 120 წუთის შემდეგ. მტკივნეული გა-  
ღიზიანებიდან 5 წუთის შემდეგ პლაზმაში  
ალდოსტერონისა და რენინის კონცენტრა-  
ცია, საწყის მდგომარეობასთან შედარებით,  
შემცირებული აღმოჩნდა; 30 წუთიდან  
ამ ნივთიერებათა კონცენტრაცია სისხლის  
პლაზმაში იმატებდა. განსაკუთრებით მკვე-  
თრი მატება აღინიშნებოდა მტკივნეული  
გაღიზიანების მიყენებიდან 120 წუთის  
შემდეგ.

სისხლში ნატრიუმის კონცენტრაცია  
მტკივნეული გაღიზიანების მიყენებიდან  
5, 15, 30, 60 წუთის განმავლობაში არ  
იცვლებოდა, 120 წუთის შემდეგ კი მომა-  
ტებული იყო, ხოლო კალიუმის კონცენ-  
ტრაცია შემცირებული იყო დაკვირვების  
ყველა საფეხურზე.

მიღებული ცვლილებების მიხედვით  
უნდა ვივარაუდოთ, რომ ალდოსტერონი  
და რენინი ჰიპოთალამურ-ნეიროჰიპოფი-  
ზური სისტემის აგზნებასთან ერთად არე-  
გულირებენ ელემტროლიტურ ჰომეო-  
სტაზს. შესაძლოა ტკივილით გამოწვეული  
სტრესის დროს სუპრაოპტიკო-ნეირო-  
ჰიპოფიზური სისტემა სხვა მეტაბოლურ  
პროცესებშიც მონაწილეობს, რომლებიც  
ახდენენ სტრესის შედეგად მიღებული  
ცვლილებების ელიმინაციას.

THE DYNAMICS OF CHANGES IN ALDOSTERONE AND RENIN CONTENT IN  
THE RABBIT'S BLOOD DURING NOCICEPTIVE STIMULATION



N. A. GZIRISHVILI, Ts. G. KHUKHUNEISHVILI, L. A. KAMARAULI

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

**S u m m a r y**

The concentration of aldosterone and renin was determined in the rabbit's blood, with simultaneous study of sodium and potassium content, under the stress, at the stage of alarm, caused by nociceptive stimulation, using the method of radioimmune analysis. The observations were carried out 5, 15, 30, 60, 120 min before and after the application of nociceptive stimulation. The concentration of aldosterone and renin decreases in 5 min after nociceptive stimulation, while their concentration in blood plasma shows an increase in 30 min. Especially sharp changes are observable in 120 min after nociceptive stimulation. The regressive relation between the content of aldostero-

ne and renin changes in 60 and 120 min, whereas the correlation is preserved. The concentration of sodium remains unchanged during 5-60 min after the application of nociceptive stimulation, while it is increased in 120 min. The potassium concentration is decreased at every stage of observation.

The revealed changes are analyzed in connection with the stimulation of hypothalamo-neurohypophyseal system together with which aldosterone and renin regulate electrolytic homeostasis. It is not ruled out, that the supraoptico-neurohypophyseal system takes part in other metabolic processes directed toward the elimination of consequences of stress.

УДК 611.018.84 : 813.12

ГИСТОЛОГИЯ

## ВЛИЯНИЕ ИОНОВ НА РАСПРЕДЕЛЕНИЕ НЕЙРОГЛИАЛЬНЫХ КЛЕТОК В СУПРАСИЛЬВИЕВОЙ ИЗВИЛИНЕ МОЗГА КОШКИ

Н. А. Костенко

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

Поступила в редакцию 17.09.1984

Исследовалось распределение астроцитов и олигодендроцитов, а также изменение нейронно-глиальных отношений в коре супрасильвиевой извилины мозга кошки при аппликации на поверхность коры растворов КСI разной концентрации (20 мМоль/л, 30 мМоль/л, 40 мМоль/л). Данные количественного анализа показали, что при аппликации КСI количество олигодендроцитов увеличилось по всем слоям по сравнению с контролем, особенно в нижних слоях коры. Количество астроцитов увеличилось достоверно в V слое коры. Во всех случаях увеличилось количество нейронов, имеющих сателлиты. Наиболее отчетливая реакция сателлитоза отмечалась при аппликации 30 мМоль/л. При аппликации 40 мМоль/л реакция со стороны олигодендроцитов и астроцитов имеет менее выраженный характер. Возможно, концентрация 30 мМоль является предельной для выявления активности нейроглии.

В последнее время все шире ведутся исследования деятельности мозга с учетом большой роли нейроглиальных клеток в его электрогенезе. Известно, что глиальная мембрана чувствительна даже к незначительным изменениям концентрации ионов калия в межклеточных щелях [4]. При этом мембрана глиальных клеток деполяризуется. Поглощая из межклеточных щелей избыточное количество ионов калия и удерживая их, глиальные клетки тем самым защищают нейроны от чрезмерных взаимовлияний, связанных с освобождением ионов калия при активации нейронов [4, 9, 10, 14, 16].

Важная роль ионов калия в деятельности нервной системы побудила нас провести исследование нейронно-глиальных взаимоотношений при воздействии КСI с разной концентрацией ионов калия на поверхность коры.

Исследование проводили на взрослых кошках при глубоком нембуталовом наркозе (80 мг/кг). Аппликация КСI с разной концентрацией ионов

калия (20 мМоль/л, 30 мМоль/л, 40 мМоль/л) производилась на среднюю часть супрасильвиевой извилины — поле Itsp [16]. При аппликации использовалось специальное приспособление, позволяющее одновременно с аппликацией производить регистрацию электрических потенциалов, в нашем случае дендритные потенциалы (ДП) [1]. Через 1 ч после начала аппликации мозг фиксировался в 10%-ном формалине. Кусочки мозга (поле Itsp) заливались в парафин и резались на срезы толщиной 15 мкм. Срезы окрашивались галлоцианин-хромовыми квасцами по Эйнарсону. Методика подсчета нейронов и нейроглии и выведения индексов описана ранее [3]. Статистическая обработка и сравнительный анализ полученных данных велись методом вариационной статистики по Стьюденту.

Результаты опытов с аппликацией на поверхность коры мозга кошки растворов КСI разной концентрации приведены в таблице и на рисунке. При действии КСI с концентрацией

20 мМоль/л подсчет количества астроцитов не дал достоверного отличия от контроля во всех слоях, кроме V слоя, где их количество несколько больше, чем в контроле. Подсчет олигодендроцитов показал увеличение их количества в нижних слоях коры (V—VI). Это подтвердил и соответствующий индекс: отношение всех олигодендроцитов ко всем нейронам (рис. 1). Для выяснения соотношения спутниковых и свободных нейроглиальных клеток были подсчитаны нейроны без спутников и нейроны с разным количеством

спутников. При действии КС1 в концентрации 30 мМоль/л количество астроцитов по всем слоям не дало достоверных отличий от контроля. Количество олигодендроцитов увеличилось в III—V слоях на 27,8% ( $p < 0,001$ ), а индекс  $\frac{\text{все олиг.}}{\text{все нейр.}}$  показал достоверное увеличение олигодендроцитов в IV—VI слоях (рис.). Из приведенной таб-

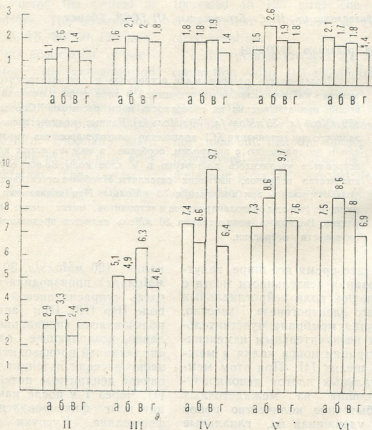


Рис. 1. Распределение по слоям астроцитов (А) и олигодендроцитов (Б) в коре супрасильвиевой извилины мозга кошки в контроле (а) и при аппликации КС1 с разной концентрацией ионов калия: б — 20 мМ, в — 30 мМ, г — 40 мМ

вом спутников. Из таблицы видно что во всех слоях коры суммарно уменьшалось количество нейронов с спутниками на 4,3%. Наибольшее их количество выявилось в нижнем комплексе слоев. Количество нейронов с 2 спутниками увеличилось на

лицы видно, что суммарно по всем слоям количество нейронов с спутниками увеличилось на 18,3% по сравнению с контролем. Наибольшее количество нейронов с спутниками наблюдалось в III—V слоях коры. Нейроны с 2, 3, 4 и более спутника-

ми увеличались в количестве по всем слоям, причем в V—VI слоях это увеличение значительное.

При аппликации растворов KCl в концентрации 40 мМоль/л количество астроцитов достоверно увеличилось в V слое (рис.), олигодендроцитов — в IV—VI слоях. При анализе таблицы выявилось, что сателлитоз проявился в меньшей степени, а именно, количество всех нейронов, имеющих сателлиты, увеличилось только на 2,9%. Наибольшее увеличение количества нейронов с сателлитами отмечается в V слое коры. В данном случае реакция сателлитоза произошла за счет нейронов с 2—4 сателлитами, в то время как нейроны с одним сателлитом почти не изменялись в числе. Нейронов с 5 и 6 сателлитами в данном случае в просмотренных срезах не наблюдалось.

Анализ полученных данных показал, что при аппликации растворов KCl произошли изменения со стороны нейроглиальных элементов и в основном со стороны олигодендроцитов. В опытах на культуре ткани показана

для 30 мМоль/л. Количество нейронов с сателлитами увеличилось на 5,9%. Исходя из наших наблюдений, эта концентрация является предельной для активности нейроглиальных клеток, так как при 40 мМоль/л не наблюдается столь выраженной реакции сателлитоза (число нейронов с сателлитами увеличилось только на 2,9%) и нейронов с 5 и 6 сателлитами не наблюдалось. Это опять-таки согласуется с данными на культуре ткани, когда при введении в среду больших концентраций ионов калия (114 мМоль/л) не происходило образования отростков и сразу наступало угнетение их двигательной активности [6].

В наших опытах в течение всего времени аппликации KCl с поверхности регистрировался ДП. Ионы калия при их низкой концентрации вызывают увеличение амплитуды ДП, а при более высоких концентрациях ионов калия амплитуда ДП уменьшается [2]. ДП обусловлен проведением возбуждения по волокнам I слоя коры [5]. Наши количественные данные вы-

Таблица

Распределение по слоям нейронов с разным количеством сателлитов в поле Isp в контроле и при аппликации KCl (в % от общего количества нейронов)

| Слой | Нейроны без сателлитов |      |      |      | Нейроны с 1 сателлитом |      |      |      | Нейроны с 2 сателлитами |     |     |     | Нейроны с 3 сателлитами |     |     |     | Нейроны с 4 и более сателлитами |      |      |      |
|------|------------------------|------|------|------|------------------------|------|------|------|-------------------------|-----|-----|-----|-------------------------|-----|-----|-----|---------------------------------|------|------|------|
|      | А                      | Б    | В    | Г    | А                      | Б    | В    | Г    | А                       | Б   | В   | Г   | А                       | Б   | В   | Г   | А                               | Б    | В    | Г    |
| II   | 21,7                   | 24,6 | 24,9 | 23,2 | 3,4                    | 3,3  | 3,4  | 4,0  | 0,4                     | 0,5 | 0,1 | 0,2 | —                       | —   | —   | —   | —                               | —    | —    | —    |
| III  | 14,9                   | 14,1 | 13,8 | 15,0 | 4,2                    | 4,5  | 5,6  | 5,6  | 1,2                     | 1,3 | 1,5 | 1,4 | 0,08                    | 0,2 | 0,1 | 0,1 | —                               | 0,2  | 0,06 | —    |
| IV   | 13,1                   | 12,3 | 9,8  | 11,5 | 5,0                    | 4,8  | 5,6  | 5,3  | 1,8                     | 2,0 | 2,4 | 1,4 | 0,5                     | 0,4 | 0,7 | 0,2 | 0,05                            | 0,05 | 0,08 | 0,03 |
| V    | 8,5                    | 5,6  | 5,3  | 6,4  | 3,5                    | 3,6  | 3,8  | 4,2  | 1,7                     | 2,7 | 2,2 | 1,9 | 0,9                     | 0,9 | 1,2 | 0,9 | 0,2                             | 0,6  | 0,8  | 0,2  |
| VI   | 11,0                   | 9,1  | 9,4  | 9,9  | 5,6                    | 5,4  | 5,1  | 6,0  | 1,5                     | 2,7 | 2,4 | 1,9 | 0,4                     | 0,7 | 0,6 | 0,3 | 0,02                            | 0,1  | 0,2  | 0,07 |
|      | 69,2                   | 65,7 | 63,2 | 66,0 | 21,7                   | 21,6 | 23,5 | 25,1 | 6,6                     | 9,2 | 8,6 | 6,8 | 1,88                    | 2,2 | 2,6 | 1,5 | 0,27                            | 0,95 | 1,14 | 0,3  |

Примечание: А — контроль; Б — Г — аппликация KCl разной концентрации: Б — 20 мМоль/л; В — 30 мМоль/л; Г — 40 мМоль/л

но, что небольшое увеличение концентрации ионов калия в среде (до 14 мМоль/л) вызывает двигательную активность олигодендроцитов, наблюдается рост и движение их отростков [6]. В наших опытах сравнительно небольшие концентрации ионов калия (20—30 мМоль/л) вызывали реакцию сателлитоза. В качестве сателлитов в основном выступают олигодендроциты. Наиболее отчетливая реакция сателлитоза наблюдается при аппликации KCl с концентрацией ионов ка-

явили определенные изменения со стороны нейроглиальных элементов не только в верхних слоях, но в основном в нижних слоях коры (V—VI).

Существуют следующие механизмы проникновения ионов калия: 1) диффузия из мест большой концентрации ионов калия [8, 13], 2) активное поглощение глией или нейроном, так называемый калиевый насос [12, 17]; 3) механизм электрического переноса [11, 16].



Предполагается, что проникновение ионов калия идет одновременно и довольно быстро [12]. Исходя из приведенных литературных данных можно понять наблюдаемую в наших опытах реакцию нейроглии не только в по-

верхностных, но и в нижних слоях коры. Суммируя все вышеизложенное можно предположить, что при увеличении концентрации ионов калия в межклеточных щелях определенным образом реагирует нейроглия, особенно олигодендроглия коры мозга.

## ЛИТЕРАТУРА

1. Гедеванишвили Г. И. Сообщение АН ГССР, 100, 437—440, 1980.
2. Гелиташвили Д. Е. Изв. АН ГССР, сер. биол., 5, 188—200, 1979.
3. Купарадзе М. Р., Костенко Н. А. Изв. АН ГССР, сер. биол., 6, 211—216, 1980.
4. Куффлер С., Николс Дж. От нейрона к мозгу, «Мир», М., 1979, 241—273.
5. Ройтбак А. И. Современные проблемы электрофизиологических исследований нервной системы, «Медицина», М., 1964, 164—220.
6. Сванидзе И. К., Ройтбак А. И., Дидимова Е. В. ДАН СССР, 211, 1450—1452, 1973.
7. Сванидзе И. К., Дидимова Е. В. Изв. АН ГССР, сер. биол., 6, 499—505, 1980.
8. Bracho H., Orkand R. K. Brain Res., 36, 416—419, 1972.
9. Gardner-Medwin A. R. J. Exper. Biol., 95, 111—127, 1981.
10. Hamberger A., Heen F. A. Metabolic Compartmentation in Brain., London and Basingstoke, 1973, 305—317.
11. Hertz L. J. Nature, 206, 1091—1094, 1965.
12. Henn F. A., Haljamae H., Hamberger A. Brain Res., 43, 437—443, 1972.
13. Lux H. D., Neher E. Exper. Brain Res., 17, 190—205, 1973.
14. Pedley T. A., Fisher R. S., Futamachi R., Prince D. Fed. Proc., 35, 1254—1259, 1976.
15. Sanides S. F., Hoffman J. J. Hirnforsch., 11, 79—104, 1969.
16. Somjen R. R. Ann. Rev. Physiol., 37, 163—190, 1975.
17. Wendell-Smith C. P., Blunt M. J., Nature, 208, 600—601, 1965.

კალიუმის იონთა გავლენა ნეიროგლიური უჯრედების  
ბანაწილებაზე კატის თავის ტვინის სუპრასინღვიპურ ხვეშულში

ბ. კოსტანკო

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

რეზიუმე

კატის ღიდი ტვინის ქერქის შუა სუპრასინღვიპურ ხვეულში (ველი Itsp, სანიდესის მიხედვით) კალიუმის იონთა სხვადასხვა კონცენტრაციის შემცველი KCl-ის აპლიკაციით შესწავლილ იქნა ნეიროგლიური უჯრედების განაწილება. 15 მკმ სისქის ანათოლების შეღებვა ხდებოდა ეინარსონის მეთოდით. მასალის რაოდენობრივმა ანა-

ლიზმა გვიჩვენა, რომ ოლიგოდენდროციტებისა და სატელიტური ნეირონების რაოდენობის ზრდა, ოლიგოდენდროციტების აქტივაცია კარგად გამოვლინდება KCl-ის ხსნარის აპლიკაციის იმ შემთხვევაში, როცა  $K^+$ -ის იონთა კონცენტრაცია 30 მმ-ია.

# INFLUENCE OF $K^+$ ON THE DISTRIBUTION OF NEUROGLIAL CELLS IN SUPRASYLVIAN GYRUS OF CAT'S BRAIN



N. A. KOSTENKO

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

## Summary

The distribution of neuroglial cells in the medial region of the cat (area I<sub>sp</sub> according to Sanides) was studied during the  $K^+$  application of different concentrations (20, 30, 40 mM). Sections of 15  $\mu$ m thick were stained with galocyanin by method of Einarson. Quantitative evaluation of the data has revealed a statis-

tically significant rise of the number of oligodendrocytes and neurons with satellites, especially at the application of 30 mM concentration  $K^+$ . This concentration was revealed to promote the activation of the neuroglia and particularly the activity of oligodendrocytes.

УДК 577.158:577.150.3

БИОХИМИЯ

## ЗАВИСИМОСТЬ НЕКОТОРЫХ ПОКАЗАТЕЛЕЙ НИТРОГЕНАЗЫ, ВЫДЕЛЕННОЙ ИЗ *Azotobacter vinelandii* UW-OP, ОТ СВОЙСТВ РЕАКЦИОННОЙ СРЕДЫ

Н. О. Гониашвили, Н. Н. Нуцубидзе

Институт биохимии растений АН ГССР, Тбилиси

Поступила в редакцию 27.12.1984

Исследовалось влияние разных органических растворителей на активность нитрогеназы (К. Ф. 1.18.2.1). Выяснилось, что из гидрофобных органических растворителей меньше всех нитрогеназу (НГ) инактивирует глицерин. В двухфазной системе (водно-буферный раствор НГ: гидрофобный органический растворитель) с высокой концентрацией органической фазы степень инактивации НГ низка, поэтому различие ее удельных активностей с контролем небольшое. Установлено, что образование обращенных мицелл в бензоле липидами, выделенными из *Azotobacter vinelandii* UW-OP, способствует стабилизации НГ.

Один из факторов, влияющий на поведение фермента, — окружающая его среда. В природных условиях ферментативные реакции протекают в воде. Высокая полярность воды, обуславливая сильное взаимодействие между белками и растворителем, по существу определяет активную конформацию сложной молекулы белка. Точнее, *in vivo* ферментативные реакции, как правило, идут на поверхности раздела фаз, поскольку наибольшая часть

количества ферментов адсорбирована на мембранах или вторгнута в мембранный слой.

Целью нашей работы являлось исследование зависимости некоторых показателей нитрогеназы (К. Ф. 1.18.2.1) от свойств реакционной среды, которая представляла собой систему, отличающуюся от воды или водно-буферного раствора своими физико-химическими (диэлектрическая проницаемость, полярность) свойствами.

### МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Фермент нитрогеназу выделяли из аэробных азотфиксирующих микроорганизмов *Azotobacter vinelandii* UW-OP и очищали по методу Ватеса [22] с некоторыми модификациями. Количество белка определяли с помощью реактива Биурета на спектрофотометре СФ-26 [3]. Один миллилитр инкубационной среды фермента содержал 1—1,5 мг НГ, 5 мкМ  $MgCl_2$ , 20 мкМ  $Na_2S_2O_4$ , 5 мкМ АТФ, 50—70 мкМ трис-НCl, 30 мкМ креатинфосфата и 0,5 мг (10 единиц) креатинфосфокиназы. Инкубацию фермента проводили при 30°C на качалке.

Активность НГ определяли модифицированным нами ацетиленовым методом на газовом хроматографе ЛХМ—8МД, снабженном ионным детектором пламени [10, 14, 17, 18]. Аналитические колонки (100 0,3) см были заполнены гранулированной окисью алюминия (0,2—0,4) мм; температура термостата колонок — 100°C; скорость подачи гелия, водорода и воздуха составляла соответственно 20, 20 и 200 см<sup>3</sup>/мин. Удельную активность по ацетилену вычисляли по формуле: уд. активность =  $K \frac{v \cdot h}{m \cdot t}$  [н.моль





$C_2H_2/mg/белка.мин]$ , где  $V$  — объем газовой фазы в инкубационном сосуде ( $см^3$ ),  $h$  — высота пика этилена ( $мм$ ),  $m$  — количество фермента в инкубационной среде ( $мг$ ),  $г$  — время инкубации ( $мин$ ),  $K$  — коэффициент пропорциональности, который в условиях опыта равнялся 14,  $32 нмоль.см^{-3}.мм^{-1}$ . Удельную активность НГ по молекулярному азоту определяли реактивом

Несслера на спектрофотометре СФ-26 [11].

Липиды выделяли из *Azotobacter vinelandii* UW-OP по Кейтсу [1]. Органические растворители очищали известными в литературе методами [4]. Исследование проводили в анаэробных условиях в среде гелия. Приведенные в статье концентрации растворителей выражали в объемных процентах.

### РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

Влияние гидрофильных органических растворителей на активность НГ. В опытах использовали следующие гидрофильные органические растворители: метиловый и этиловый спирты, диметилсульфоксид, диметилформамид, 1,4-диоксан, моноаминоэтанол, глицерин, этиленгликоль и ацетон. Контролем принимали удельную активность фермента в водно-буферном растворе. Результаты приведены на рис. 1.

диметилсульфоксида, в отличие от вышеуказанных растворителей, уменьшение удельной активности фермента выражено менее. В 30%-ном растворе диметилсульфоксида удельная активность НГ составляла 24% от активности в водно-буферном растворе, а в 40%-ном растворе — уже равнялась нулю. Степень инактивации фермента в остальных растворителях постепенно уменьшалась в следующей последовательности: моноаминоэтанол → этиленгликоль → глицерин. Так, если удельная активность НГ в 50%-ном растворе моноаминоэтанола равнялась нулю, то в растворах этиленгликоля и глицерина той же концентрации она составляла соответственно 10 и 30% от активности в водно-буферном растворе. НГ полностью инактивировалась в 65%-ном растворе этиленгликоля, а в случае глицерина концентрация, вызывающая полную инактивацию, составляла 80—85%.

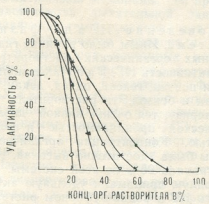


Рис. 1. Зависимость удельной активности НГ от концентрации органического растворителя: ● — глицерин, × — этиленгликоль, ○ — моноаминоэтанол, ▲ — диметилсульфоксид, △ — этанол, □ — ацетон

Как видно из рисунка, резкое падение удельной активности НГ с увеличением концентрации органического растворителя в реакционной среде отмечалось в случаях ацетона и этилового спирта. Аналогично действовали метиловый спирт, 1,4-диоксан и диметилформамид. В 30%-ных растворах этих растворителей удельная активность НГ падала до нуля. В случае

Эти результаты согласуются с литературными данными [2, 20] в том, что молекула белка сохраняет нативную структуру, а значит и каталитическую активность в тех растворителях, которые участвуют в сольвофобных взаимодействиях. Частным случаем этих взаимодействий, по мнению Рея [20], являются гидрофобные взаимодействия, которые играют основную роль в сохранении нативной структуры молекулы белка в водных растворах [19]. По силе сольвофобных взаимодействий, растворители делят на три класса: 1) вода, глицерин, этиленгликоль, моноаминоэтанол и др.; 2) метилформамид, диметилформамид; 3) метанол, этанол, толуол. Сольвофобные взаимодействия больше всех реализуются в растворителях первого класса, сравнительно меньше — в растворителях

второго класса и практически не существуют в растворителях третьего класса [2]. Поэтому можно считать, что для функционирования НГ наиболее благоприятными должны быть растворители первого класса. Однако из растворителей этого класса, естественно, надо выделять воду, которую использует природа, а затем глицерин.

Известно, что НГ катализирует восстановление соединений, содержащих тройные или условно тройные связи и гидроксиль [9]. В связи с этим представляло интерес изучение восстановления ферментом молекулярного азота и ацетилена в разных концентрациях раствора глицерина. Результаты приведены в табл. 1. Как видно из таблицы, в водно-буферном растворе скорость превращения ферментом ацетилена в этилен в 4,3 раза больше, чем восстановления молекулярного азота. С увеличением концентрации глицерина эта величина постепенно уменьшалась, а в 80%-ном растворе глицерина, наоборот, скорость восстановления азота была вдвое больше, чем скорость восстановления ацетилена. В случае ацетилена наблюдалось 105-кратное уменьшение скорости реакции, тогда как скорость превращения молекулярного азота уменьшилась 12 раз, т. е. почти в 10 раз медленнее. По литературным данным [2], чем менее реакционноспособен субстрат по отношению к ферменту в воде, тем меньше падает скорость его превращения при переходе в смесь воды с органическим растворителем. Следовательно, в это время происходит изменение специфичности фермента, что и можно использовать для выяснения механизма специфичности действия ферментов.

Во время изучения ферментативного катализа надо разграничивать влияние среды на каталитические группы в активном центре от ее влияния на активную конформацию фермента. Исключено, чтобы использованные нами растворители могли бы вызвать химическое модифицирование НГ. Более допустимо, что уменьшение удельной активности фермента как в глицерине, так и в других гидрофильных органических растворителях было вызвано нарушением активной конформации молекулы НГ. Подтверждением этого является зависимость оптического поглощения НГ в ультрафиолетовой об-

ласти (278 мμ) от концентрации глицерина (рис. 2). Как видно из рисунка, даже малое количество глицерина вызывает конформационное изменение молекулы НГ, которое с увеличением концентрации растворителя переходит в денатурацию. Резкий скачок на кривой соответствует процессу денатурации фермента.

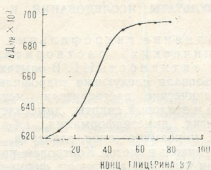


Рис. 2. Оптическое поглощение НГ при 278 мμ как функция концентрации глицерина

Поведение НГ в двухфазной системе. Иным было влияние гидрофобных органических растворителей на активность НГ. В опытах использовали пентан, гексан, октан, декан, ундекан и бензол. Эти растворители характеризуются очень низкой диэлектрической проницаемостью и полярностью. Концентрация органической фазы была достаточно высокая, она составляла 95% от всей системы. За исходную принимали удельную активность НГ в водно-буферном растворе. В одном случае система представляла эмульсию — водно-буферный раствор НГ: гидрофобный органический растворитель, а в другом случае — суспензию — пористое стекло (размер пор 5—15 мк): гидрофобный органический растворитель. Пористое стекло пропитывали НГ и водно-буферным раствором компонентов для функционирования фермента. Результаты приведены в табл. 2.

Как видно из таблицы, удельные активности уменьшены по сравнению с исходной как в первом, так и во втором случаях, однако разница не очень большая. По нашему мнению, уменьше-

ние было вызвано растворением малого количества органического растворителя в воде и, в результате, малым изменением конформации НГ, или же денатурацией части фермента. Помещение НГ в пористое стекло вызвало сравнительное увеличение удельной активности фермента. Как видно, адсорбция НГ на поверхности пор стекла повышала степень устойчивости структуры белка по отношению к влиянию гидрофобных органических растворителей.

Таким образом, в двухфазной системе с малым содержанием воды НГ, как и некоторые другие ферменты [7], функционирует хорошо.

Поведение НГ в обращенных мицеллах. Установлено, что в интактных клетках *Azotobacter vinelandii* НГ локализована на цитоплазматических мембранах, которые имеют окислительно-восстановительные функции, но они с процессом фиксации азота непосредственно не связаны [5, 12]. Клеточные мембранные структуры, которые содержат НГ, называются азотофорами [21]. Что касается цитоплазматической мембраны, ей приписывается роль дыхательной защиты (увеличение темпа дыхания для удаления избыточного кислорода [13, 15]) и генератора некоторых компонентов, которые участвуют в восстановлении НГ [16]. Существуют факты (более низкая активность фракций, содержащих азотофоры, по сравнению с очищенными препаратами НГ), которые ставят под сомнение участие мембран в процессе фиксации азота.

Известно, что полярные липиды при диспергировании в воде образуют мицеллы, в которых углеводородные хвосты липидов защищены от контакта с водой, образуя гидрофобную фазу, а гидрофильные головы расположены на внешней поверхности мицелл [5]. Если вместо воды использовать какой-нибудь гидрофобный растворитель, то при диспергировании липидов в них произойдет образование так называемых «обращенных мицелл». В таких мицеллах полярные группы образуют ядро мицелл, а углеводородные фрагменты — внешний слой, подобно поверхностно активным веществам [8].

Нами было изучено влияние времени и температуры на стабильность НГ, находящейся в обращенных ми-

целлах. Суммарную фракцию липидов отделяли от хлороформа током гелия при 30°C и полученный остаток растворяли в октане, декане, ундекане, пентане, гексане и бензоле. Поскольку наиболее хорошей растворимостью обладал бензол, его и использовали в наших опытах. 40 мг препарата растворяли в 5 мл бензола и прибавляли к нему 0,1 мл водно-буферного раствора НГ (1, 2 мг). При встряхивании образовывалась мицеллярная эмульсия. Для определения активности (АТР-ге-рирующую систему и донор электронов не добавляли в эмульсию) мицеллы осаждали центрифугированием эмульсии при 20000 g. В это время НГ отделялась от осадка липидных частиц. Бензол удаляли с помощью шприца.

Для изучения влияния времени на активность фермента использовали мицеллярный раствор НГ в бензоле, а в качестве контроля водно-буферный

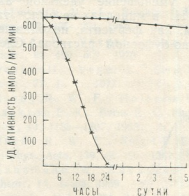


Рис. 3. Зависимость удельной активности НГ от времени: ● — мицеллярная эмульсия НГ в бензоле, × — НГ в водно-буферном растворе

раствор фермента. В опытах применяли НГ, очищенную 23-кратно. Инкубацию проводили при комнатной температуре (25°C) в темноте. Оказалось, что фермент в водно-буферном растворе полностью инактивировался в течение 24—27 ч, в то время как НГ в обращенных мицеллах в бензоле в течение 5 дней теряла лишь 5—8% исходной активности, т. е. практически сохраняла исходную активность (рис. 3).

Изучено влияние высокой температуры на НГ активность в мицеллах.

Для сравнения использовали водно-буферный раствор фермента, очищенного 15- и 23-кратно. Инкубацию про-

примесных белков и, особенно, мембранных компонентов.

Для подтверждения этого суждения и вышеотмеченного результата снимали спектры оптического поглощения в ультрафиолетовой области (278 нм) НГ, денатурирующей при 60°C. (рис. 5). После центрифугирования мицеллярной эмульсии и удаления бензола брали 0,03 мл супернатанта, переносили в кювету и разбавляли водно-буферным раствором до 3,5 мл. В этих опытах применяли НГ, очищенную 23-кратно. Контролем служила НГ в водно-буферном растворе. При измерении оптических поглощений фермента во всех случаях использовали анаэробные кюветы.

Как видно из рис. 5, кривая денатурации НГ в водно-буферном растворе характеризуется более резким скачком, чем кривая НГ, находящейся в обращенных мицеллах.

Результаты опытов свидетельствуют о том, что в обращенных мицеллах между НГ и липидами существуют определенные взаимодействия, что выражается в стабилизации НГ комплекса. В то же время эти взаимодействия не так сильны, поскольку при центрифуг-

Таблица 1

Зависимость удельной активности НГ от концентрации глицерина

| Концентрация глицерина в % | Удельная активность                             | Удельная активность                          | $\frac{A_1}{A_2}$ |
|----------------------------|---|--|-------------------|
|                            | $C_2H_2/\text{мг-белка. мин}$ (A <sub>1</sub> ) | $N_2/\text{мг-белка. мин}$ (A <sub>2</sub> ) |                   |
| 0                          | 525   | 122  | 4,3               |
| 10                         | 483   | 117  | 4,1               |
| 20                         | 388   | 102  | 3,8               |
| 30                         | 299   | 85   | 3,5               |
| 40                         | 220   | 68   | 3,2               |
| 50                         | 141   | 51   | 2,8               |
| 60                         | 81  | 37   | 2,2               |
| 70                         | 34  | 23   | 1,5               |
| 80                         | 5   | 10   | 1/2               |

водили при 60°C. Результаты представлены на рис. 4. Как видно из рисунка, уменьшение удельной активности НГ в мицеллах не было таким резким, как фермента, находившегося в водно-буферном растворе. Следует

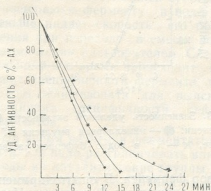


Рис. 4. Влияние температуры (60°C) на удельную активность НГ: ▲ — мицеллярная эмульсия НГ, очищенной 23-кратно в бензоле; водно-буферные растворы НГ, очищенной × — 15-кратно, ● — 23-кратно

отметить, что с увеличением степени чистоты НГ время ее инактивации уменьшалось. Это указывает на защитную функцию присутствующих

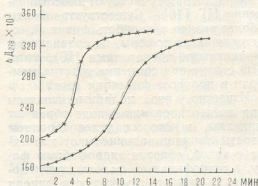


Рис. 5. Оптическое поглощение (278 нм) НГ при воздействии температуры (60°C) как функция времени: ● — НГ в обращенных мицеллах в бензоле, × — НГ в водно-буферном растворе

гировании они нарушаются. Использование обращенных мицелл, образующихся в бензоле, позволяет создать приближенную модель фермента НГ, функционирующей *in vivo*.

Таблица 2

Удельные активности НГ в двухфазной системе: I — водно-буферный раствор НГ : гидрофобный органический растворитель; II — пористое стекло : гидрофобный органический растворитель

| Растворитель | I  |      | II  |      |
|--------------|--|------|---|------|
|              | Удельная активность, $\frac{\mu\text{моль } \text{C}_2\text{H}_2}{\text{мг-белка} \cdot \text{мин}}$ | %    | Удельная активность, $\frac{\mu\text{моль } \text{C}_2\text{H}_2}{\text{мг} - \text{белка} \cdot \text{мин}}$ | %    |
| Вода         | 525  | 100  | 525   | 100  |
| Пентан       | 433  | 82,5 | 466   | 88,8 |
| Гексан       | 435  | 82,9 | —   | —    |
| Октан        | 439  | 83,9 | 473   | 90,1 |
| Декан        | 439  | 83,9 | —   | —    |
| Ундекан      | 450  | 85,7 | —   | —    |
| Бензол       | 396  | 75,4 | 435   | 82,9 |

ЛИТЕРАТУРА

1. Кейтс М. Техника липидологии, «Мир», М., 1975.
2. Клибанов А. М., Семенов А. Н., Самохин Г. П., Мартинек К. Биоорганическая химия, 4, 82—88, 1978.
3. Кочетков Г. А. Практическое руководство по энзимологии, «Высшая школа», М., 1980, 222—223.
4. Лабораторная техника органической химии (под ред. Б. Кейла), «Мир», М., 1966, 591—613.
5. Левченко Л. А., Ивлева И. Н., Яковлев В. А. В сб.: Новое в изучении биологической фиксации азота, «Наука», М., 1971.
6. Ленинджер А. Биохимия, «Мир», М., 1974, 246—247.
7. Мартинек К., Клибанов А. М., Самохин Г. П., Семенов А. М., Березин И. В. Биоорганическая химия, 3, 696—702, 1977.
8. Мартинек К., Левашов А. В., Клячко Н. Л., Березин И. В. ДАН СССР, 236, 920—923, 1977.
9. Проблемы фиксации азота (под ред. Р. Харди, Ф. Боттомли, Р. Бёрнс), «Мир», М., 1982, 455—499.
10. Шапошников Г. А. Биохимические методы, М., 1980.
11. Шарло Г. Методы аналитической химии, «Химия», М., 1966.
12. Яковлев В. А., Левченко Л. А. ДАН СССР, 159, 1173—1174, 1964.
13. Ackrel V. A. C., Jones C. W. Eur. J. Biochem., 20, 29—35, 1971.
14. Dilworth M. J. Biochim. Biophys. Acta, 127, 285—294, 1966.
15. Haaker H., Veeger C. Eur. J. Biochem., 63, 499—507, 1976.
16. Haaker H., Veger C. Eur. J. Biochem., 77, 1—10, 1977.
17. Hardy R. W. F., Holsten R. D., Jackson E. K., Burns R. C. Plant Physiol., 43, 1185—1207, 1968.
18. Hardy R. W. F., Knight E. Biochim. Biophys. Acta, 139, 69—90, 1967.
19. Kauzmann W. Advances Protein Chem., 14, 1—63, 1959.
20. Ray A. Nature, 231, 313—314, 1971.
21. Reed D. W., Toia R. E., Raveed D. Biochem. Biophys. Res. Commun., 58, 20—26, 1974.
22. Yates M. G., Planque K. Eur. J. Biochem., 60, 467—476, 1975.

AZOTOBACTER VINELANDII UW-OP-ის ნიტროგენაზას

ზომიერთი მახასიათებლის დამოკიდებულება

სარეაქციო არის თვისებებზე

6. ლონიაზიმი, 6. ნუტრაზიმი

საქართველოს სსრ მეცნიერებათა აკადემიის მეცნიერთა ბიოქიმიის ინსტიტუტი, თბილისი

რეზიუმე

შესწავლილ იქნა სხვადასხვა ორგანული გამხსნელის გავლენა ნიტროგენაზას აქტივობაზე. გამოირკვა, რომ პილროფი-

ლური ორგანული გამხსნელებიდან ფერმენტის ინაქტივაციას ყველაზე ნაკლებად იწვევს გლიცერინი. ორფაზიან სისტემაში

(ფერმენტის ბუფერული წყალხსნარი — ჰიდროფობური ორგანული გამხსნელი), ორგანული გამხსნელის მაღალი კონცენტრაციის დროს (>90%), ნიტროგენაზას ინაქტივაციის ხარისხი მცირეა, ამიტომ მისი ხვედრითი აქტივობა საკონტროლოსაგან დიდად არ განსხვავდება. დადგინდა, რომ ბენზოლში ლიპიდებისაგან წარმოქმნილი შებრუნებული მიცელები ზრდიან ნიტროგენაზას სტაბილურობას. ოთახის

ტემპერატურაზე ფერმენტი მთლიანად კარგავს აქტივობას 24—27 საათში, როდესაც შებრუნებულ მიცელებში ხსნართული ნიტროგენაზა ბენზოლში 5 დღის განმავლობაში საწყისი აქტივობის 5—8 %-ს კარგავს. შებრუნებული მიცელების ასეთივე მასტაბილირებელი ეფექტი ნიტროგენაზაზე შემჩნეულ იქნა მაღალი ტემპერატურის პირობებშიც.

## DEPENDENCE OF SOME NITROGENASE INDUCED FROM AZOTOBACTER VINELANDII UW-OP ON REACTION MEDIUM CHARACTERISTICS

N. O. GONIASHVILI, N. N. NUTSUBIDZE

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

### S u m m a r y

The influence of different solvents on the nitrogenase activity has been studied. Among hydrophobic organic solvents, glycerine appeared to cause the least inactivation. In doublephase system of nitrogenase aqueous buffer solution: hydrophobic organic solvent with the high organic phase concentration, the degree of activation is low, and the difference of specific activity and control is not too big.

It was established that formation of

converted micells by lipids isolated from *Azotobacter vinelandii* promotes nitrogenase stabilization in benzole. At room temperature (25°C) nitrogenase in aqueous buffer solution completely loses activity within 24-27 hours, while nitrogenase of converted micells in similar conditions preserves the initial activity even 5 days later. The same stabilizing effect in converted micells on nitrogenase was obtained under the conditions of high temperature.

УДК 581.9(479)

БОТАНИКА

## КОЭФФИЦИЕНТ СХОДСТВА ПЕТРОФИЛЬНОЙ ФЛОРЫ ВЫСОКОГОРНОЙ СВАНЕТИ, РАЧА-ЛЕЧХУМИ И ЮГО-ОСЕТИИ (ЮЖНЫЕ СКЛОНЫ ЦЕНТРАЛЬНОГО КАВКАЗА)

Ш. К. Шетекаури

*Институт ботаники им. Н. Н. Кецховели АН ГССР, Тбилиси*

Поступила в редакцию 20.11.1984

Обсуждается коэффициент сходства высокогорной (1800—3500 м н. у. м.) петрофильной флоры Сванети, Рача-Лечхуми и Юго-Осетии. Для установления коэффициента сходства между отдельными районами использована формула Престона.

Как в количественном отношении, так и по видовому составу выявлено сходство флоры Сванети и Рача-Лечхуми, от которой значительно отличается флора Юго-Осетии. Это объясняется особенностью геоморфологического строения и истории флоры изучаемых районов.

В течение нескольких лет нами изучались высокогорные флороценотические комплексы южных склонов Центрального Кавказа (Сванети, Рача-Лечхуми, Юго-Осетии). К последнему относится средняя часть горной области Большого Кавказа, расположенная между меридианами гор Эльбрус и Казбек [1, 2].

В результате исследований были выделены следующие высокогорные флороценотические комплексы: скально-осыпно-россыпные, горно-луговые, рододендронниковые, субальпийско-высокотравные и альпийские ковры; отдельно рассматривались деревья и кустарники.

В статье мы касаемся коэффициента сходства высокогорной флоры скально-осыпно-россыпного комплекса данной территории.

Как известно [3—10], под высокогорной подразумевается флора пространств, расположенных выше естественного предела распространения лесной растительности (независимо от гипсометрических высот расположения над уровнем моря). Последний обычно совпадает со среднеиюльской изотермой, равной 10°C.

Естественные пределы распространения той или иной растительности часто меняются в зависимости от колебаний границ высотной поясности. Наблюдается смещение субальпийского пояса до высоты 1800 м н. у. м., соответственно которому устанавливается нижний предел высокогорья. Верхним пределом распространения высокогорных растений принята высота 3500 м н. у. м., хотя верхней границей произрастания растений считаются гипсометрические высоты со среднеиюльской изотермой 3—4°C. К ним относятся орео- и ультраореофиты субнивального пояса, отличающиеся высокой резистентностью.

Все 258 видов, объединенных в 35 семействах и 107 родах, выявленных с указанных высот в каждом из 3-х флористических районов, представлены в разном количестве. Количественное соотношение таксонов внутри ведущих родов и семейств определило «лицо» флоры исследуемой территории. Выявлены видовые отличия состава флор отдельных районов и разница в количественном отношении.

При установлении коэффициента сходства петрофильной флоры вер-

Ареологический спектр скально-осынно-россытого высокогорного флоростепного комплекса Сванети, Рача-Лечхуми и Юго-Осетии

| Тип ареалов | Группа ареалов        | Число видов | %     | Общее число видов    |                    |                         | Среди них |    |     |
|-------------|-----------------------|-------------|-------|----------------------|--------------------|-------------------------|-----------|----|-----|
|             |                       |             |       | Сванети—Рача-Лечхуми | Сванети—Юго-Осетии | Рача-Лечхуми—Юго-Осетии |           |    |     |
|             |                       |             |       |                      |                    |                         | I         | II | III |
| COLCH       | colch: lat: caelb     | 3           | 1,16  | 2                    | 0                  | 0                       |           |    |     |
|             | colch: w. gr. cauc    | 28          | 10,85 | 12                   | 2                  | 3                       |           |    |     |
|             | colch: colch—laz      | 3           | 1,16  | 3                    | 2                  | 2                       |           |    |     |
| EUCAUC      | eucauc: lat. gr. cauc | 48          | 18,60 | 31                   | 25                 | 25                      |           |    |     |
|             | eucauc: cent. cauc    | 16          | 6,20  | 8                    | 4                  | 6                       |           |    |     |
|             | eucauc: cauc. min     | 1           | 0,39  | 1                    | 0                  | 0                       |           |    |     |
| CAUC        | cauc: lat. cauc       | 41          | 15,89 | 19                   | 20                 | 18                      |           |    |     |
|             | cauc: cauc. as. min   | 37          | 14,34 | 24                   | 23                 | 19                      |           |    |     |
|             | cauc: cauc. as. anter | 19          | 7,36  | 16                   | 14                 | 15                      |           |    |     |
| MEDIT       | medit—cauc            | 5           | 1,94  | 2                    | 2                  | 2                       |           |    |     |
|             | medit—as anter—cauc   | 6           | 2,32  | 6                    | 5                  | 5                       |           |    |     |
|             | medit—europ—cauc      | 3           | 1,16  | 1                    | 0                  | 0                       |           |    |     |
| EUROP       | europ—cauc            | 2           | 0,77  | 1                    | 1                  | 1                       | 25        | 28 | 28  |
|             | europ—medit—cauc      | 4           | 1,55  | 3                    | 3                  | 4                       |           |    |     |
| AS. MIN     | as. min—cauc          | 4           | 1,55  | 1                    | 2                  | 1                       |           |    |     |
|             | as. min—europ—cauc    | 1           | 0,39  | 1                    | 0                  | 1                       |           |    |     |
| AS. ANTER   | as. anter—cauc        | 1           | 0,39  | 0                    | 1                  | 0                       |           |    |     |
| PANCONT     | pancont—cauc          | 2           | 0,77  | 2                    | 2                  | 2                       |           |    |     |
| HOLARCT     | holaret—cauc          | 19          | 7,36  | 15                   | 16                 | 15                      |           |    |     |
| PALEARCT    | palearet—cauc         | 15          | 5,81  | 12                   | 9                  | 9                       |           |    |     |
| всего 10    | 20                    | 258         | 100   | 159(61,63%)          | 130(50,38%)        | 127(40,22%)             |           |    |     |

Примечание: для всех 3-х районов общими являются 120 видов



Условные обозначения: к табл. 1:

Типы:

COLCH — колхидский; EUCAUC — кавказский (евкавказский); CAUC — кавказский; MEDIT — средиземноморский; EUROP — европейский; AS. MIN — малоазиатский; AS. ANTER — переднеазиатский; PANCONT — панконтинентальный; HOLARCT — голарктический; PALEARCT — палеарктический.

Группы:

lat. colch — ширококолхидская; colch-laz — колхидско-чанетская; lat. cauc — ширококавказская; w. gr. cauc — западно-кавказская; centr. cauc — центрально-кавказская; lat. gr. cauc — общекавказская.

хovieв Ингури, Цхенис-цкали, Риони, Ксани и Лиахви нами также принималась во внимание типология ареалов [11, 12], в основе которой лежит диапазон современного географического распространения растений и «центр

Таблица 2

Коэффициент сходства и различия между флорами Сванети (I), Рача-Лечхуми (II) и Юго-Осетии (III) на примере скально-осыпного и каменисто-россыпного флорценоотического комплекса

| Флористические районы | I    | II   | III  |
|-----------------------|------|------|------|
|                       |      |      |      |
| I                     |      | 0,25 | 0,35 |
| II                    | 0,75 |      | 0,38 |
| III                   | 0,65 | 0,62 | —    |

## ЛИТЕРАТУРА

- Алехин В. В., Кудряшов Л. В., Говорухин В. С. География растений, Учпедгиз, М., 1957.
- Гагнидзе Р. И., Иванишвили М. А. Изв. АН ГССР, сер. биол., 1, 3, 201—209, 1975.
- Гагнидзе Р. И., Иванишвили М. А. Изв. АН ГССР, сер. биол., 1, 5—6, 373—390, 1975.

тяжести ареала» отдельных видов. Установлены общие географические элементы для Сванети — Рача-Лечхуми (I, II районы), Сванети—Юго-Осетии (II—III), Юго-Осетии — Рача-Лечхуми (III—II); выявлено также общее число видов всех 3-х флористических районов и количество видов для каждого в отдельности (табл. 1).

Из общего числа видов петрофильной флоры на Сванети приходится — 198, Рача-Лечхуми — 197, Юго-Осетию — 166. Для определения коэффициента сходства между отдельными районами использована формула Престона [13]:

$$\left(\frac{F_1}{F_{1+2}}\right)^{\frac{1}{2}} + \left(\frac{F_2}{F_{1+2}}\right)^{\frac{1}{2}} = 1,$$

где  $F_1$  — число видов, входящих в флору одного района;  $F_2$  — число видов флоры второго сравниваемого района;  $F_{1+2}$  — общее число видов двух сравниваемых районов;  $z$  — показатель различия между сравниваемыми флорами;  $1 - z$  — коэффициент сходства сравниваемых флор по таблице Престона.

Коэффициент сходства и различия между флорами приводится в табл. 2.

Таким образом, выявилось сходство между петрофильной флорой Сванети и Рача-Лечхуми в количественном отношении и по видовому составу. В этом отношении от них значительно отстает Юго-Осетия, что объясняется отличием первых двух районов от последнего массивной горной системой, характером оледенения и историей флоры. В ботанико-географическом отношении первые районы представляют часть фитохорона Колхиды; в верховья рек Ксани и Лиахви не могут проникнуть многие интересные представители колхидской флоры, сосредоточенные, в основном, в выссокорьях Сванети и Рача-Лечхуми.

- Гвоздецкий Н. А. Физическая география Кавказа, МГУ, М., 1954.
- Долуханов А. Г., Сахокиа М. Ф., Харадзе А. Л., Тр. Тбил. бот. ин-та, 8, 114—138, 1942.
- Красноборов И. М. Высокогорная флора Западного Саяна, «Наука», Новосибирск, 1976.



7. Кумынова А. В. Растительный покров Алтая, «Наука», Новосибирск, 1965.  
 8. Малышев Л. И. Высокогорная флора Восточного Саяна, «Наука», М.-Л., 1965.  
 9. Маруашвили Л. И. В кн.: Геоморфология Грузии, «Мецниереба», Тбилиси, 1971, 172—236.  
 10. Станюкович К. В. Растительность вы-

сокогорий СССР, Изд-во АН Тадж. ССР, Сталинабад, 1960.  
 11. Станюкович К. В. Растительность гор СССР, «Дониш», Душанбе, 1973.  
 12. Толмачев Л. И. Введение в географию растений, ЛГУ, Л., 1974.  
 13. Preston F. W. Ecology, 43, 3, 410 — 432, 1962.

სვანეთის, რაჭა-ლეჩხუმისა და სამხრეთ ოსეთის (ცენტრალური კავკასიონის სამხრეთი კალთები) მაღალი მთის კებროფილური ფლორის მსგავსების კოეფიციენტი

შ. შეთაკაური

საქართველოს სსრ მეცნიერებათა აკადემიის ნ. კეტხოველის საბელოის ბოტანიკის ინსტიტუტი, თბილისი

რეზიუმე

ნაშრომში განხილულია სვანეთის, რაჭა-ლეჩხუმისა და სამხრეთ ოსეთის მაღალი მთის (ზღვის დონიდან 1800—3500 მეტრი სიმაღლეები) პეტროფილური ფლორის მსგავსების კოეფიციენტი პრესტონის ფორმულის მიხედვით. გამოვლინდა სვანეთისა და რაჭა-ლეჩხუმის ფლორის მსგავსება, როგორც სახეობათა რიცხვის, ისე სახეობრივი შემადგენლობის მიხედვით. ამ თვალსაზრისით სამხრეთ ოსეთი მათ-

გან მნიშვნელოვნად განსხვავდება, რაც შეიძლება პირველი ორი რაიონის გამყინვარების ხასიათის თავისებურებითა და ფლორის ისტორიით აიხსნას. ამ ვარაუდებით უნდა აიხსნას ის ფაქტი, რომ მდინარე ქსნისა და ლიახვის სათავეებამდე ვერ აღწევს ის მრავალი საინტერესო სახეობა, რომელიც კოლხეთის ფიტობორონიუმში — სვანეთსა და რაჭა-ლეჩხუმშია თავმოყრილი.

SIMILARITY COEFFICIENT OF THE PETROPHYLIC FLORA OF SVANETI, RACHA - LECHKHUMI AND SOUTH - OSETI HIGH MOUNTAINS (SOUTH SLOPES OF THE CENTRAL CAUCASUS)

Sh. K. SHETKAURI

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

Summary

Similarity coefficient of the petrophylic flora of Svaneti, Racha-Lechkhumi and South-Oseti (1800 — 3500 m above the sea level) is considered.

To establish the similarity coefficient among various districts the Preston formula has been used.

The similarity of Svaneti and Racha-Lechkhumi flora has been revealed both quantitatively and in species. But as for South-Oseti, it considerably differs from them in this respect due to the peculiarity of glaciation and the history of the flora of the former two districts.

УДК 597.05.152(28)

ЭКОЛОГИЯ

## О ПЛОТНОСТИ И ПРОСТРАНСТВЕННОМ РАСПРЕДЕЛЕНИИ РЫБ В ТБИЛИССКОМ ВОДОХРАНИЛИЩЕ

Л. К. Малинин, Т. Р. Кокосадзе

*Институт биологии внутренних вод АН СССР, БОФОР,  
Институт зоологии АН ГССР, Тбилиси*

Поступила в редакцию 12.03.1984

С помощью гидроакустических съемок выявлено, что в Тбилисском водохранилище наиболее высокая плотность пелагических рыб приурочена к мелководной восточной части. Обширные площади центральной части водоема характеризуются очень низкими биомассами рыб. Средняя ихтиомасса в глубоководных участках составляет  $15 \pm 5$  кг/га. Во время летней термостратификации основная масса рыб концентрируется выше слоя температурного скачка, занимая зону эпилимниона. Это обусловлено тем, что основу ихтиофауны Тбилисского водохранилища составляют теплолюбивые виды рыб.

Тбилисское водохранилище относится к Самгорской оросительной системе. Оно создано путем искусственного затопления 11-километрового отрезка долины древней Куры водами р. Иорн. Водоем характеризуется резкими колебаниями уровня воды. Наименьший уровень воды приходится на август-октябрь. Площадь зеркала воды варьирует от 5,15 до 10,75 км<sup>2</sup> [6]. Наибольшая глубина при максимальном направлении достигает 43 м.

В июле 1983 г. на этом водоеме нами была проведена гидроакустическая съемка с целью изучения плотности и пространственного распределения пелагических рыб. Гидроакустические методы с применением современных рыбопоисковых приборов достаточно объективно отражают реальную картину распределения и плотности рыб. Основные положения применения этих методов изложены в различной литературе [7, 8]. В нашей работе использовались эхолоты «Лещ» и «Fishfinder—5000». Эхосъемку проводили с катера «Прогресс» на скорости 4—4,5 км/ч. Скорость хода постоянно измеряли гидрологической вертушкой. Съемка проводилась по системе параллельных разрезов поперек водоема.

Всего было сделано 10 разрезов с интервалом 0,8—1 км. Плотность рыб рассчитывали на каждые 100 м хода катера. Рассчитанные плотности наносили на схему водоема, затем определяли линии равных плотностей рыб (изофиши). Биомассу рыб определяли исходя из средней навески рыб в промысловых уловах. Из-за методических ограничений из поля наших исследований выпали все мелководия с глубинами менее 4 м.

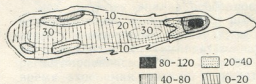


Рис. 1 Схема распределения рыб (в кг/га) в Тбилисском водохранилище

На рис. 1 представлена схема распределения биомассы рыб (без разделения на виды) в горизонтальной плоскости. Здесь же приведены и изолинии глубин во время наших работ. Первое на что следует обратить внимание, —

это очень низкие биомассы рыб на обширных площадях центральных глубоководных участков водохранилища. Здесь максимальная величина ихтиомассы была  $10 \pm 5 \text{ кг/га}$ , минимальная — менее  $2 \text{ кг/га}$ . Наиболее высокие концентрации рыб отмечены в восточной части водоема в районе впадения канала, несущего воды р. Иори. Здесь биомасса рыб достигала величин  $100 \pm 20 \text{ кг/га}$ . Еще один участок с повышенной плотностью рыб ( $60 \pm 20 \text{ кг/га}$ ) обнаружен в западной части озера над глубинами менее 20 м. В целом для всей исследованной нами акватории средняя ихтиомасса оценена величиной  $15 \pm 5 \text{ кг/га}$ .

Для оценки характера пространственного распределения рыб определенный интерес представляет выяснение степени агрегированности рыб. Для этого нами был использован показатель Ллойда [1], который рассчиты-

вается по формуле  $C_L = \frac{S^2 - \bar{x}}{\bar{x}^2} + 1$ , где

$S$  — среднеквадратическое отклонение,  $\bar{x}$  — среднеарифметическая величина плотности рыб. Оказалось, что для центральных участков водохранилища показатель агрегированности равняется 1,1—1,4. Это говорит о том, что распределение пелагических рыб, составляющих основу ихтиомассы центральных участков, имеет однообразный характер с относительно малой агреги-

разновидная молодь, потребляющая зоопланктон [4] и укляя. В небольшом количестве в пелагиали представлены и другие планктоноядные виды: рипус, шемая. В открытых водах встречается форель, но численность ее невелика [3]. Однородность распределения пелагических рыб определяется специфической распределения зоопланктона и динамикой водных масс. В Тбилиском водохранилище подвижность водных масс в значительной мере зависит от ветровых воздействий [5], которые предопределяют постоянное смешение.

В мелководных прибрежных зонах показатель Ллойда существенно выше (2,5—3,7) в связи с большей агрегированностью рыб в литорали. Из 22 видов и подвидов рыб, составляющих ихтиофауну этого водоема, наиболее массовыми являются бентосоядные: храмуля, карп, пескарь, шиповка, бычок. Первые два вида в промысловых уловах по весу составляют 70—80%. Наиболее оптимальными условиями для их нагула обладают места с малыми глубинами [2]. Отличительной особенностью распределения бентосных организмов является их ярко выраженная агрегированность [1]. Такая специфика распределения кормовых объектов, вероятно, и обуславливает наблюдаемую нами агрегированность распределения рыб в прибрежных мелководьях.

Из эхограмм видно, что в прибрежных участках размеры эхоотметок от рыб существенно больше, чем на открытых участках. Это говорит о том, что наиболее крупные рыбы в водохранилище придерживаются в основном прибрежья. В связи с этим интерес представляет анализ распределения рыб в зависимости от глубин. По мере приближения к прибрежным мелководиям возрастает как плотность рыб, т. е. количество особей на единицу площади, так и их биомасса. Коэффициент корреляции между биомассой рыб и глубиной на биотопе в целом для всех 10 эхометрических разрезов составил  $0,43 \pm 0,09$  при  $P > 0,95$ , что говорит о сравнительно высокой взаимосвязи этих показателей. Еще большим коэффициент корреляции получается при анализе биомасс рыб, находящихся над глубинами менее 20 м ( $0,63 \pm 0,1$  при  $P > 0,95$ ). Эти данные хорошо согласуются с выводом М. Г.

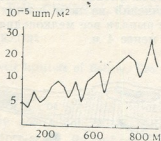


Рис. 2 Изменения плотностей рыб по одному из эхометрических разрезов: по оси ординат — плотность рыб, шт/м<sup>2</sup>, абсцисс—расстояние, м

рованностью. Это можно видеть также непосредственно по эхограммным записям и по изменениям плотностей рыб на конкретных разрезах (рис. 2). В Тбилиском водохранилище основу пелагического комплекса составляют

Деметрашвили [1] о том, что большая часть рыбного населения в Тбилисском водохранилище приурочена к зонам с малыми глубинами.

Тбилисское водохранилище в летнее время характеризуется четким расслоением вод на эпи-, мега- и гиполимнион. Слой температурного скачка пролегает на глубине 12—14 м. Из эхограмм видно, что в глубоководных участках основная масса рыб концентрируется только в верхних слоях воды.

Непосредственно во время эхосъемок нами были проведены измерения температуры воды по вертикали. На рис. 3 представлены данные этих из-

мерений вертикального распределения пелагических рыб. По мере приближения к береговой линии горизонт нахождения рыб несколько увеличивается. Здесь встречаются отряды рыб, находящихся на глубинах более 10 м. В ряде случаев регистрировалась рыба непосредственно в придонных слоях на глубинах 14—16 м. Измерения температуры воды по вертикали показали, что вблизи мелководий расслоение вод нарушается (рис. 3б). Температура воды вблизи дна и у поверхности отличается здесь всего на 2—4° (для сравнения отметим, что в центральных глубоководных участках разница в температурах воды по-

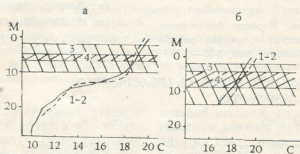


Рис. 3. Вертикальное распределение температуры воды (1—2), зона обитания рыб (3) и горизонт их наибольшей концентрации (4): а) — в центральном глубоководном участке; б) — в прибрежной зоне; по оси ординат — глубина, м, абсцисс — температура воды, в градусах

мерений, здесь же нанесена и частота встречаемости рыб в различных горизонтах. В центральных участках рыбы занимают только слой эпилимниона, обитая в 3—10 м от поверхности воды. Наиболее высокие концентрации рыб отмечаются в еще более узком слое толщиной всего 2 м, в 5—7 м от поверхности. Диапазон температур в зоне обитания рыб очень небольшой, 17—19° (рис. 3а). Совершенно не отмечены рыбы в гиполимнионе. В промежуточном слое, металимнионе, встречаются единичные особи. Такое распределение обусловлено видоспецифичностью ихтиофауны: подавляющее большинство видов — теплолюбивые. Из холодолюбивых можно отметить только ладожского рипуса и форель, акклиматизированных в этом водоеме еще в 60-годах. Но численность их невелика и они не определяют общую

верхность — дно достигает 10—11°). Таким образом, глубина нахождения рыб в летнее время в значительной степени определяется степенью термического расслоения вод.

Был проведен анализ особенностей распределения пелагических рыб в связи с изменениями температуры воды у поверхности. Температура воды регистрировалась непосредственно во время эхосъемки, датчик электротермометра крепился на штанге выносного вибратора эхолота. Отмечено, что изменения температуры воды у поверхности во время наших наблюдений варьировали незначительно, в пределах  $\pm 0,7$ , (от 19,5 до 20,9°). Коэффициент корреляции между биомассами рыб и температурой воды у поверхности составлял  $0,24 \pm 0,11$  при  $P > 0,95$ . Это говорит о слабой связи между показателями. Иными слова-

მი, незначительные изменения в температуре воды у поверхности не оказывают существенного влияния на пространственное распределение рыб.

Таким образом, наши исследования показали, что в горизонтальном аспекте наибольшая плотность и биомасса рыб в летнее время отмечается

в прибрежных мелководьях с глубинами менее 10—12 м. В вертикальном плане зона нахождения рыб ограничивается только эпилимнионом. Общая ихтиомасса в Тбилисском водохранилище (без учета мелководий), сравнительно небольшая, составляла на период наблюдений  $15 \pm 5$  кг/га.

#### ЛИТЕРАТУРА

1. Баканов А. И. Бентос оз. Плещеево. Функционирование озерных экосистем, Рыбинск, 1983, 70—83.
2. Деметрашвили М. Г. Труды Института зоологии АН СССР, XIX, 1963, 137—139.
3. Деметрашвили М. Г. В кн.: Вопросы биологической продуктивности внутренних водоемов Грузии, Тбилиси, 1969, 132—149.
4. Кохия А. Б. В кн.: Вопросы биологической продуктивности внутренних водоемов Грузии, Тбилиси, 1969, 150—158.
5. Метревели Г. С. В кн.: Вопросы биологической продуктивности внутренних водоемов Грузии. Тбилиси, 1969, 198—200.
6. Садовский А. А. В кн.: Вопросы биологической продуктивности внутренних водоемов Грузии, Тбилиси, 1969, 37—42.
7. Юданов К. И., Калихман И. Л. В кн.: Вопросы промысловой гидроакустики, М., 1981, 31—49.
8. Buczynski J. FAO Fish. Techn. Pap., 191, 1—89, 1982.

#### თბილისის წყალსაცავში თევზების სივრცობრივი განაწილება და სიმჭიდროვე

ლ. მალინინი, თ. კოკოსაძე

სსრკ მეცნიერებათა აკადემიის შიდა წყლების ბიოლოგიის ინსტიტუტი, ბოროკი  
საქართველოს სსრ მეცნიერებათა აკადემიის ზოოლოგიის ინსტიტუტი, თბილისი

რ ე ზ ი მ ე

1983 წლის ივლისში თბილისის წყალსაცავზე თევზსაძიებელი ზელსაწყობების დახმარებით ჩატარდა პილოტული გადამკვლევი. გამოვლინდა, რომ ამ წყალსაცავში (თხელწყლიანი ადგილების გარდა) თევზების საშუალო ბიომასა  $15 \pm 5$  კგ/ჰა-ს შეადგენს. ზაფხულის სეზონის სტრატეფიკაციის დროს თევზების ძირითადი მასა ეპილიმნიონშია კონცენ-

ტრირებული. წყლის ტემპერატურის ვერტიკალურმა განსაზღვრამ გვიჩვენა, რომ ტემპერატურული სხვაობა წყლის ზედაპირსა და ფსკერს შორის  $2-4^{\circ}$ -ია. სხვაობის ზღვრის ქვედა ფენებში თევზები არ აღმოჩნდა. ეს იმის შედეგია, რომ თბილისის წყალსაცავის პელაგიური იქტიოფაუნის ძირითადი წარმომადგენლები სითბოს-მოყვარული თევზებია.

#### ON ABUNDANCE AND SPACING OF FISHES IN THE TBILISI RESERVOIR

L. K. MALININ, T. R. KOKOSADZE

The Institute of Biology of the Internal Waters, Academy of Sciences, Borok, USSR  
The Institute of Zoology, Georgian Academy of Sciences, Tbilisi, USSR

#### S u m m a r y

In July 1983 hydroacoustic survey of the Tbilisi reservoir was made with echo sounder. It was estimated that average biomass of fishes in this reservoir was about  $15 \pm 5$  kg/ha, without registration of shallows. During summer strati-

fication the main masses of fishes concentrated in epilimnion. Below the layer of thermocline fishes were not found. This is due to the fact that the basic representatives of ichthyofauna of Tbilisi reservoir are heat-loving fishes.

## ВЛИЯНИЕ ФОРМАЛЬДЕГИДА И АМИНОМЕТИЛОЛЬНЫХ СОЕДИНЕНИЙ НА ВЫЖИВАЕМОСТЬ И ИНДУКЦИЮ КОЛИЦИНОГЕННОСТИ У МУТАНТОВ *ESCHERICHIA COLI* ПО РЕПАРАЦИИ И РЕКОМБИНАЦИИ

Дж. А. Джеджелавა, Т. Г. Чанишвили

*Тбилисский НИИ вакцин и сывороток МЗ СССР, Тбилиси*

Разработаны условия экспериментального изучения индукции синтеза колицина E1 формальдегидом, оптимальные для наблюдения снижения уровня выживаемости и увеличения доли колициногенных клеток у дикого штамма *E. coli*. В этих условиях исследованы выживаемость и индукция колициногенности у репарационных и рекомбинационных мутантов кишечной палочки при их обработке формальдегидом и аминотимолольными соединениями. Предложен способ вычисления коэффициента индукции.

Установлена зависимость уровня индукции синтеза колицина и выживаемости от мутаций в различных генах репарации и рекомбинации. Данные интерпретируются как доказательство того, что механизмом индукции является дерепрессия колициногенной плазмиды.

Специфические летальные синтезы в колициногенных системах в их обычном состоянии подавлены, так как репликация эписомных элементов репрессируется продуктами хромосомных генов. С помощью индуцирующих агентов колициногенные факторы можно вывести из-под хромосомного контроля. Возможность такой искусственной регуляции функций плазмид путем индукции имеет важное значение как для уточнения механизмов взаимодействия плазмид с бактериальным геномом, так и для выяснения природы самого явления индукции.

Мы изучали индуцирующее воздействие формальдегида (ФА) и его соединений с аминокислотами на синтез колицина E1 у штаммов *E. coli* с мутациями в генах, ответственных за репарацию и рекомбинацию. Мутагенные свойства ФА известны давно, однако лишь в последнее время было привлечено внимание к механизму действия этого агента—в связи с тем, что он оказался удобным средством для изучения роли шивок ДНК-белок и ДНК-ДНК в мутагенезе.

Установлено, что ФА эффективно взаимодействует с денатурированными участками ДНК, вступая в реакцию с аминогруппами оснований, а с нативной молекулой реагирует в незначи-

тельной степени. Такое различие в активности данного мутагена по отношению к раздвоенным и скрученным участкам ДНК настолько очевидно, что оно используется для локализации расплетенных участков. Этот тест дал возможность Синсхеймеру в 1959 г. доказать, что геном фага ФХ174 представлен одноцепочечной ДНК [11].

Поверенный и др. [2] использовали ФА для фиксации денатурированных участков ДНК, а также с целью исследования характера повреждений вторичной структуры ДНК, вызванных гамма- и УФ-облучением. Согласно данным Алдерсона [7] при взаимодействии ФА с нуклеиновыми кислотами образуются адениновые димеры, в которых два смежных основания связываются друг с другом посредством прочного метиленового мостика между аминогруппами. Нишиока в 1973 г. показал, что летальные и мутационные повреждения, вызванные ФА, подвергаются такой же эксцизионной репарации, как и индуцированные УФ-светом тиминовые димеры [9].

Семин и соавт. [3] изучали возможность взаимодействия монометилонных производных аминокислот с нуклеотидами и интактными молекулами ДНК. По их мнению, проявление мутагенного действия ФА имеет место в

условиях, когда обязательно должно происходить образование аминотетрациклиновых соединений. Мицевич и др. установили, что в процессах репара-

ции индуцированных ФА и его производными повреждений ДНК принимают участие продукты генов *uvrC*, *recA* и др. [1].

## МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Использованные в работе штаммы *E. coli* K12 приведены в табл. 1. Все они являются носителями колициногенной плазмиды ColE1. В опытах по определению колициногенности в качестве индикатора служил неколициногенный дикий штамм KS112. Проверку способности штаммов к синтезу колицина проводили по Фредерiku ме-

Таблица 1

Генетическая характеристика использованных штаммов

| Штамм  | Состояние генов |                         |
|--------|-----------------|-------------------------|
|        | репарации       | рекомбинации            |
| KS112  | +               | +                       |
| KS114  | <i>uvrE502</i>  | +                       |
| 3283   | <i>uvrA6</i>    | +                       |
| Jc5519 | +               | <i>recB21recC22</i>     |
| Jc7623 | +               | <i>recB21recC22sbcB</i> |
| AB2463 | +               | <i>recA13</i>           |

цни. Монометилольные производные глицина фирмы Serva (ФРГ) и отечественного препарата лизина — монометилглицин (ММГ) и монометиллизин (ММЛ) готовили смешиванием ФА с трехкратными избытками аминокислот [1, 3].

С целью определения количества жизнеспособных клеток в исходных суспензиях и спонтанного уровня колициногенности ночные бульонные культуры колициногенного и индикаторного штаммов выращивали до логарифмической фазы. Клетки исследуемой культуры осаждали центрифугированием и ресуспендировали в первоначальном объеме натрий-фосфатного буфера, pH 6,8. Для определения количества жизнеспособных клеток готовили серию разведений опытной культуры, а затем из определенных разведений высевали по 0,1 мл суспензии на поверхность твердого агара в чашках Петри и растирали шпателем. Чашки ставили в термостат при 37°C до следующего утра и производили подсчет колоний. В случае определения спонтанного уровня колицинпродукции по 0,1 мл суспензии исследуемой культуры из соответствующих разведений смешивали с 5 мл расплавленного и остуженного до 45°C мягкого агара, добавляли 0,2 мл индикаторной культуры и смесь выливали в чашки на поверхность твердого агара. После застывания верхнего агара чашки ставили в термостат при 37°C. Через 4—5 ч в газоне сплошного роста индикатора появляются зоны просветления вокруг отдельных клеток, спонтанно продуцирующих колицин. Это так называемые лакуны [10]. После подсчета лакун и образующих колонии клеток определяли спонтанный уровень колициногенности, рассчитываемый как отношение общего количества жизнеспособных бактерий к числу колицинпродуцирующих клеток. Эту величину можно назвать коэффициентом спонтанного выхода колицина и обозначить как  $K_1$ .

тодом агаровых слоев [6]. Ночные бульонные культуры исследуемых штаммов засеивали уколом в твердый питательный агар, инкубировали в течение 24 ч и убивали клетки выросших колоний парами хлороформа. Свежую стационарную культуру индикаторного штамма разбавляли в 10-кратном объеме мясоептонного бульона, подращивали до логарифмической фазы роста (1,5 ч при 37°C) и, смешав 0,2 мл суспензии с расплавленным и охлажденным до 45°C мягким агаром, наносили на поверхность твердого агара с выросшими (и убитыми хлороформом) колониями исследуемой культуры. После 12—18-часового инкубирования чашек при 37°C о колициногенности изучаемого штамма судили по наличию вокруг колоний прозрачных зон отсутствия роста индикаторной культуры.

Для опытов использовали обычный формалин. После точного определения концентрации ФА иодометрическим методом [5] готовили 10 М раствор, соответствующими разведениями которого получали нужные concentra-

Торможение роста клеток и индукцию колициногенности изучали сле-



дующим образом. К исходной культуре добавляли ФА, ММГ или ММЛ с таким расчетом, чтобы конечная концентрация ФА соответствовала цели конкретного опыта (испытывались концентрации  $2 \times 10^{-3} \text{М}$ ,  $5 \times 10^{-3} \text{М}$ ,  $2 \times 10^{-2} \text{М}$  и  $5 \times 10^{-2} \text{М}$ ). После добавления индуктора к культуре, находящейся в логарифмической фазе роста, смесь инкубировали при  $37^\circ \text{C}$  с перемешиванием в течение 30 мин и центрифугировали 15 мин при 6000 об/мин с целью избавления от реагента; осадок ресуспендировали в натрий-фосфатном буфере. Так же, как и в исходной культуре, в обработанных образцах подсчитывались количества жизнеспособных и колициногенных (ставших такими после индукции) клеток. Вновь вычислялось соотношение жизнеспособных и колициногенных бактерий, которое выражало новый уровень колициногенности, обозначенный символом  $K_2$ . На наш взгляд, величиной, удобной для оценки эффективности индукции, может служить коэффициент  $K_n$ , равный отношению  $K_1/K_2$ , а в качестве показателя степени тормо-

## РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ И ИХ

Для определения индукции колициногенности у различных штаммов кишечной палочки с помощью ФА и аминотетрациклиновых соединений следовало разработать оптимальные экспериментальные условия. На рис. 1 представлены средние данные 9 опытов по изучению торможения роста исходного штамма KS112-K и его *uvrE*-мутанта KS114-K различными концентрациями ФА и ММГ. Доля клеток, сохранивших способность формировать колонии после инкубирования с соответствующей концентрацией ингибитора, выражена в процентах по отношению к первоначальному количеству жизнеспособных клеток. Ось ординат градуирована в условных единицах, полученных в результате логарифмирования чисел от 0 до 100 по основанию 2. Из приведенных результатов можно заключить, что оптимальными условиями для изучения торможения роста клеток следует считать концентрацию ингибитора в пределах  $2-5 \times 10^{-3} \text{М}$  и время инкубации 30 мин. В последующих опытах установлено, что «разрешающая спо-

собность» этих условий достаточно высока для фиксирования различий в чувствительности изучаемых мутантов

жения роста клеток  $K_t$ , вполне приемлем результат деления числа жизнеспособных бактерий в исходной культуре на количество таких клеток после обработки индуктором. Если исходное количество жизнеспособных клеток обозначить через  $K_0$ , а число бактерий, спонтанно продуцирующих колицины (определяемое путем подсчета лакун), — через  $L_0$ , то  $K_1 = K_0/L_0$ . После индукции получаем новое соотношение  $K/L$ , обозначенное нами, как было указано, символом  $K_2$ . Коэффициент индукции вычисляется в результате деления  $K_1$  на  $K_2$ , т. е.

$$K_n = \frac{K_0}{L_0} : \frac{K}{L} = \frac{K_0 \times L}{K \times L_0} = \frac{K_0}{K} \times \frac{L}{L_0}$$

После подстановки вместо соотношения  $K_0/K$  получим окончательное выражение для коэффициента индукции

$$K_n = K_t \times \frac{L}{L_0}$$

## ОБСУЖДЕНИЕ

Рис. 1. Зависимость выживаемости клеток различных штаммов от времени инкубации культуры и концентрации индукторов (ФА и ММГ): 1—KS112,  $2 \times 10^{-3} \text{М}$  ФА; 2—KS112,  $2 \times 10^{-3} \text{М}$  ММГ; 3—KS114,  $1 \times 10^{-2} \text{М}$  ФА; 4—KS114,  $2 \times 10^{-2} \text{М}$  ФА; 5—KS114,  $5 \times 10^{-2} \text{М}$  ФА; 6—KS114,  $5 \times 10^{-2} \text{М}$  ММГ

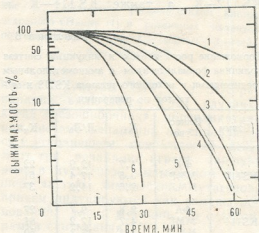


Рис. 1. Зависимость выживаемости клеток различных штаммов от времени инкубации культуры и концентрации индукторов (ФА и ММГ): 1—KS112,  $2 \times 10^{-3} \text{М}$  ФА; 2—KS112,  $2 \times 10^{-3} \text{М}$  ММГ; 3—KS114,  $1 \times 10^{-2} \text{М}$  ФА; 4—KS114,  $2 \times 10^{-2} \text{М}$  ФА; 5—KS114,  $5 \times 10^{-2} \text{М}$  ФА; 6—KS114,  $5 \times 10^{-2} \text{М}$  ММГ

к ФА и аминотилоловым соединениям.

В серии экспериментов, результаты которой представлены в табл. 2 (средние данные 5 опытов), была изучена зависимость индукции синтеза колицина клетками штамма KS 112—К от концентрации ФА. Полученные данные также иллюстрируют четкую корреляцию степени торможения жизнеспособности клеток с молярностью ингибитора.

поставление действия ФА и аминотилоловых дериватов показывает, что ММГ является более эффективным индуктором, чем ФА и ММЛ, которые влияют на уровень торможения роста клеток и индукцию колициногенности почти в одинаковой степени.

Из известного на сегодняшний день огромного числа мутагенов различные авторы выделяют две группы агентов. Одна из них вызывает повреждения, прерывающие репликацию ДНК. К

Таблица 2

Зависимость торможения роста клеток и индукции колициногенности штамма KS112 от концентрации формальдегида

| Концентрация ФА     | Время, мин | Клетки            | Лакуны            | $K_T$ | Л/Л <sub>0</sub> | $K_{и}$ |
|---------------------|------------|-------------------|-------------------|-------|------------------|---------|
| $2 \times 10^{-3}M$ | 0          | $1,3 \times 10^8$ | $2,5 \times 10^4$ | 1,8   | 13,2             | 24      |
|                     | 30         | $7,2 \times 10^7$ | $3,3 \times 10^5$ |       |                  |         |
| $5 \times 10^{-3}M$ | 0          | $1,3 \times 10^8$ | $3,6 \times 10^4$ | 2,6   | 10,0             | 26      |
|                     | 30         | $5,0 \times 10^7$ | $3,5 \times 10^5$ |       |                  |         |
| $1 \times 10^{-2}M$ | 0          | $1,5 \times 10^8$ | $2,1 \times 10^4$ | 5,0   | 3,0              | 15      |
|                     | 30         | $3,0 \times 10^7$ | $6,0 \times 10^4$ |       |                  |         |
| $5 \times 10^{-2}M$ | 0          | $1,9 \times 10^8$ | $4,3 \times 10^4$ | 50,0  | 0,5              | 25      |
|                     | 30         | $3,8 \times 10^6$ | $2,0 \times 10^4$ |       |                  |         |

Далее было предпринято сравнительное изучение индукции синтеза колицина при воздействии ФА, ММГ и ММЛ на штаммы, отличающиеся друг от друга по способности к репарации УФ-повреждений: исходный — KS 112—К, а также KS 114—К и

Таблица 3

Торможение роста клеток и индукция синтеза колицина формальдегидом и аминотилоловым соединениями у исходного штамма KS112 и мутантов по репарации

| Штамм | Вещество | $K_T$ | Л/Л <sub>0</sub> | $K_{и}$           |
|-------|----------|-------|------------------|-------------------|
| KS112 | ФА       | 1,7   | 12,9             | 22                |
|       | ММГ      | 3,5   | 17,4             | 61                |
|       | ММЛ      | 2,6   | 14,2             | 37                |
| KS114 | ФА       | 2,8   | 9,7              | 27                |
|       | ММГ      | 4,7   | 17,2             | 81                |
|       | ММЛ      | 3,1   | 16,3             | 50                |
| 3283  | ФА       | 19,3  | 23,6             | $4,6 \times 10^2$ |
|       | ММГ      | 33,6  | 133,0            | $4,5 \times 10^3$ |
|       | ММЛ      | 29,9  | 63,4             | $1,9 \times 10^3$ |

3283—К с мутациями в генах *uvrE* и *uvrA* соответственно. Средние данные 8 опытов представлены в табл. 3. Со-

этой группе относятся митомицин С, 4-нитрохинолин-1-оксид (4—НХО), бифункциональные алкилирующие агенты и др. Вторая группа — ионизирующие излучения, монофункциональные алкилирующие вещества, блеомицин и т. д. — индуцирует нарушения структуры ДНК, не прерывающие репликации. Эндонуклеаза *uvrA*(В) специфична по отношению к участкам ДНК, модифицированным диаддуктами [4]. Сопоставив эти сведения с результатами наших исследований, указывающими на очень высокую чувствительность мутанта *uvrA* к действию ФА и его производных, можно предположить, что изучаемые индукторы относятся к первой группе. Наши данные, демонстрирующие различия в чувствительности клеток дикого типа и мутанта *uvrE* к индуцирующему действию ФА (а также ММГ и ММЛ), можно считать аргументом в пользу предположения, что для исправления вызванных используемыми веществами нарушений необходимо нормальное функционирование гена *uvrE*. В литературе имеются доказательства того, что двойной мутант *uvrAuvrE* по резистентности к УФ не отличается от одиночного мутанта [8]; следовательно,

но, оба эти гена участвуют в одном и том же — эксцизионном — пути репарации. Из наших результатов, показывающих гораздо большую чувствительность *uvrA*-мутанта по сравнению с мутантом *uvrE* к индуцирующему действию ФА, можно заключить, что репарация димеров происходит намного эффективнее в присутствии продукта гена *uvrA*. С другой стороны, установлено, что ФА вызывает в бактериальном геноме образование как адениновых димеров, так и шпик ДНК-белок и ДНК-ДНК [1]. Надо полагать, что исправление дефектов двух последних типов происходит путем пострепликативной репарации, так как известно, что продукт гена *uvrE* принимает участие как в эксцизионной, так и пострепликационной репарации, а ген *uvrA* имеет значение для раннего этапа эксцизионного восстановления. Из всего вышесказанного можно вывести следующее заключение: в клетках с генотипом *uvrA uvrE* происходит репарация димеров и не репарируются шпик; в случае же мутанта *uvrA uvrE* репарируются шпик и малая часть димеров.

На рис. 2 в виде диаграммы показаны результаты исследования торможения роста клеток штамма дикого типа и мутантов *recBrecC*, *recA* и *recBrecCsbC*. Штамм с нормальной способностью к рекомбинации и мутант, в котором рекомбинационный дефект сочетается с супрессорной мутацией, подвержены ингибированию формальдегидом в одинаковой степени. Мутации в генах *recBrecC* повышают чувствительность клеток к ФА приблизительно в 2,5, а в гене *recA* — в 4,5 раза по сравнению со штаммом дикого типа. Эти данные согласуются с представленными в литературе генетическими характеристиками упомянутых мутантов [4, 8]:

Многие авторы, например [12, 13], постулируют существование группы индуцибельных *recA*lexA — зависимых явлений (так называемых SOS-функций), координированно выражающихся в ответ на нарушение репликации ДНК. Хотя прямая инактивация репрессора показана лишь для индукции профага лямбда, исследователи считают, что все SOS-функции индуцируются в результате депрессии. Предполагается, что торможение репликации определенных участков ДНК включает общий для всей группы яв-

лений путь индукции, который завершается синтезом снимающего репрессию эффектора. Эвелин Виткин приводит данные, доказывающие, что к числу таких индуцибельных феноменов, выражающихся в клетках *E. coli* с генетическими повреждениями, относится склонная к ошибкам (*error-prone*) система репарационной репликации, т. е. SOS-репарация, для которой индуцирующим сигналом служит сохранение вызванных УФ-светом и другими повреждающими агентами нару-

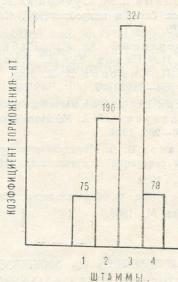


Рис. 2. Торможение формальдегидом клеток исходного штамма (1) и различных мутантов по генам рекомбинации: 2 — *recBrecC*; 3 — *recA*; 4 — *recBrecCsbC*

шенной структуры ДНК, т. е. SOS-репарация включается в тех случаях, когда «безошибочная» дорепликативная система репарации не справляется с устранением повреждений [12]. Этот тип репарации играет важную роль в мутагенезе, вызываемом большей частью химических мутагенов, причем индуцируются как замены оснований, так и мутации со сдвигом рамки считывания.

Согласно принятой в настоящее время модели контроля SOS-функций, сигнал, генерируемый повреждением ДНК, ведет к включению протеолитической активности белка *RecA*. Расщепление этим белком клеточных или профаговых репрессоров вызывает индукцию функций, репрессированных в

отсутствие повреждений ДНК [13].

В обычных условиях популяция клеток *E. coli*, содержащих колициногенный фактор ColE1, спонтанно продуцирует соответствующий колицин с частотой  $10^{-3}$ — $10^{-4}$ . Индуцирующие агенты, такие как УФ-свет, митомицин С и другие, наряду с летальным эффектом, повышают долю колицин-про-

дуцирующих клеток в выжившей части популяции [10]. Сопоставление полученных нами аналогичных результатов с литературными данными позволяет заключить, что механизмом индукции синтеза колицина E1 формальдегидом и аминотетрацольными соединениями является депрессия колициногенной плазмиды.

## ЛИТЕРАТУРА

1. Мицевич Е. В., Семин Ю. А., Поверенный А. М., Сучков Ю. Г. Бюлл. эксп. биол. и микробиол., 87, 466—468, 1979.
2. Поверенный А. М., Рябченко Н. И., Гамов Ю. И., Иванник Б. П., Симонов В. В. Мол. биол., 6, 524—535, 1972.
3. Семин Ю. А., Коломыйцева Е. Н., Поверенный А. М. Мол. биол., 8, 276—285, 1974.
4. Тарасов В. А. Молекулярные механизмы репарации и мутагенеза, «Наука», М., 1982.
5. Уокер Дж. Ф. Формальдегид, Госхимиздат, М., 1957.
6. Фредерик П. В кн.: Биологическое воспроизведение макромолекул, ИЛ, М., 1960, 161—187.
7. Alderson T. Nature, 191, 251—253, 1961.
8. Clark A. J. Ann. Rev. Genetics, 7, 67—86, 1973.
9. Nishioka H. Mut. Res., 17, 261—265, 1973.
10. Ozeki H., Stocker A. D., Margerie H. Nature, 184, 337—339, 1959.
11. Sinsheimer R. L. J. Mol. Biol., 1, 37—42, 1959.
12. Witkin E. M. Proc. Nat. Acad. Sci., 71, 1930—1934, 1974.
13. Witkin E. M. Bact. Rev., 40, 869—907, 1976.

ფორმალდეჰიდისა და ამინოთეტრაძოლის შინაარსების გავლენა  
ESCHERICHIA COLI-ს რეპარაციული და რეკომბინაციული  
მუტაციების სიცოცხლისუნარიანობასა და  
კოლიციანობის ინდუქციაზე

ჯ. ჯავახიასა, თ. ხანიშვილი

სსრკ ჯანმრთელობის დაცვის სამინისტროს თბილისის ვაქცინებისა და  
შრატების სამეცნიერო-კვლევითი ინსტიტუტი, თბილისი

რეზიუმე

დადგინდა ფორმალდეჰიდით გამოწვეული კოლიციანობის ინდუქციის შესწავლის ოპტიმალური ექსპერიმენტული პირობები ნაწლავის ჩხირის ველური შტამისათვის. ამ პირობებში შესწავლილ იქნა *E. coli*-ს რეპარაციული და რეკომბინაციული მუტაციების ზრდის უნარის დაქვეითება და მათში კოლიცინის სინთეზის ინდუქცია ფორმალდეჰიდისა და ამინოთეტრაძოლის შენაერთთა გავლენით. წარ-

მოდგენილია ინდუქციის კოეფიციენტის გამოთვლის ხერხი.

გამორკვეა, რომ კოლიცინის სინთეზის ინდუქციის დონე და სიცოცხლისუნარიანობა დამოკიდებულია რეპარაციისა და რეკომბინაციის სისტემების სხვადასხვაგნთა მუტაციებზე. მიღებული შედეგები ადასტურებს მოსაზრებას, რომ ინდუქციის მოგლენას საფუძვლად უდევს კოლიციანობის პლაზმიდის დერეგრესია.



EFFECT OF FORMALDEHYDE AND AMINOMETHYLOL COMPOUNDS ON THE SURVIVAL AND INDUCTION OF COLICINOGENY IN UVR-AND REC-MUTANTS OF E. COLI

J. A. JEJELAVA, T. G. CHANISHWILI

Tbilisi Institute of Vaccines and Sera, Ministry of Health of the USSR

Summary

Experimental conditions for the study of induction of colicinogeny with formaldehyde in wild strain of E. coli were established. In these conditions the survival and the induction of colicinogeny in repair and recombination-deficient mutants under the influence of formaldehyde and aminomethylol compounds were studied. The method for the calculation

of induction coefficient has been proposed.

In different strains of E. coli the levels of induction and survival were shown to depend on mutations in several genes of repair and recombination. The results obtained suggest that derepression of colicinogenic plasmid underlies the induction phenomenon.

УДК576.8

МИКРОБИОЛОГИЯ

## ВЛИЯНИЕ ОРГАНИЧЕСКИХ АЗОТСОДЕРЖАЩИХ КОМПОНЕНТОВ СРЕДЫ НА РОСТ И ЛИПОГЕНЕЗ МИКРОСКОПИЧЕСКОГО ГРИБА РОДА *Entomophthora*

М. Н. Самадашвили, М. Н. Бехтерева

*Институт ботаники им. Н. Н. Кецховели АН ГССР, Тбилиси*  
*Институт микробиологии АН СССР, Москва*

Поступила в редакцию 10.10.1984

Изучено влияние органических азотсодержащих соединений (аминокислот и их амидов) на рост, образование липидов и жирнокислотный состав микроскопического гриба рода *Entomophthora* при выращивании его на синтетической среде. Проведенные наблюдения свидетельствуют о специфичности отношения исследуемой культуры к экзогенным азотсодержащим соединениям различной химической структуры и о заметном воздействии их на интенсивность роста и липогенез.

Азотсодержащие органические соединения играют важную роль в жизнедеятельности микроорганизмов. Аминокислоты участвуют в синтезе ряда биологически активных соединений. Имеются сведения о влиянии экзогенных аминокислот и их амидов на рост некоторых микроскопических грибов [2, 8, 4].

Отношение микроорганизма к этим субстратам неоднозначно и во многом зависит от выбранного штамма и от композиции питательной среды. Вопросу влияния экзогенных органических азотсодержащих соединений на липогенез у микроскопических грибов посвящено крайне мало исследований. Изучением роста грибов рода *Entomophthora* на 15 различных аминокислотах и некоторых амидах в присутствии в среде глюкозы было показано, что

благоприятным источником для синтеза каротиноидов и липидов является смесь глутаминовой кислоты, глицина, лейцина и аспарагина [3]. В дальнейшем эта среда (среда 12) была использована и для других представителей сем. *Choanaphoradaleae*, в частности для грибов рода *Cunninghamella* [6]. Рост и развитие грибов, принадлежащих к сем. *Entomophthoraceae*, на синтетических средах с аминокислотами не изучались.

Настоящая работа посвящена исследованию роста, образования и состава липидов и их взаимосвязи с фазами развития культуры гриба рода *Entomophthora* на синтетической среде с различным содержанием аминокислот.

### МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Объектом исследования был микроскопический гриб рода *Entomophthora*. Посевным материалом служила суспензия спор и воздушного мицелия 4-суточной культуры, выращиваемой

на глюкозопептонном агаре. Глубинное культивирование проводили на качалке (180 об/мин) при 26—27°C в конических колбах (250 мл) с 60 мл синтетической среды 12. Источником



азота служили в %: лейцин — 0,05, глицин — 0,05, глутаминовая кислота — 0,05, аспарагин — 0,05 [3]. В опытах использовали различные модификации среды 12: среда 12а содержала удвоенную концентрацию азотосодержащих компонентов; в среду 12б были дополнительно введены в %: триптофан — 0,05, лизин — 0,05, цистин — 0,05, аланин — 0,05.

Биомассу гриба определяли взвешиванием абсолютно сухого мицелия; рН — потенциометрически. Липиды выделяли по методу Фольча [10]. Метилловые эфиры жирных кислот получали кислотным метанолизом липидов [9], а их очистку проводили на колонке с силикагелем 100/160 фирмы

«Chemapol» (ЧССР). Продолжительность метилирования и чистоту метиловых эфиров жирных кислот определяли на пластинках «Silufol» 254 с использованием паров вода для обнаружения полученных соединений. Метилловые эфиры жирных кислот идентифицировали методом газожидкостной хроматографии на приборе «Хром-4» с пламенно-ионизационным детектором. Длина колонки — 2,5 м. В качестве стационарной фазы применяли 12%-ный полиэтиленгликольадипат на хромосборе (80—100 меш), температура — 180°; скорость газоносителя (азот) — 50 мл/мин.

Таблица 1

Влияние органических азотсодержащих компонентов среды на рост и образование липидов у гриба рода *Entomophthora*

| Показатели                     | Среда |       |      |      |      |      |      |      |      |      |      |      |
|--------------------------------|-------|-------|------|------|------|------|------|------|------|------|------|------|
|                                | 12    |       |      |      | 12а  |      |      |      | 12б  |      |      |      |
|                                | 2     | 3     | 5    | 7    | 2    | 3    | 5    | 7    | 2    | 3    | 5    | 7    |
| Лейцин — 0,05 %                | 74    |       |      |      | 38   |      |      |      | 38   |      |      |      |
| Глицин — 0,05 %                | 74    |       |      |      | 38   |      |      |      | 38   |      |      |      |
| Аспарагин — 0,05 %             | 74    |       |      |      | 38   |      |      |      | 38   |      |      |      |
| Глутаминовая кислота — 0,05 %  | 74    |       |      |      | 38   |      |      |      | 38   |      |      |      |
| Лейцин — 0,05 %                | 74    |       |      |      | 38   |      |      |      | 38   |      |      |      |
| Глицин — 0,05 %                | 74    |       |      |      | 38   |      |      |      | 38   |      |      |      |
| Аспарагин — 0,05 %             | 74    |       |      |      | 38   |      |      |      | 38   |      |      |      |
| Глутаминовая кислота — 0,05 %  | 74    |       |      |      | 38   |      |      |      | 38   |      |      |      |
| Триптофановая кислота — 0,05 % | 74    |       |      |      | 38   |      |      |      | 38   |      |      |      |
| Лизин — 0,05 %                 | 74    |       |      |      | 38   |      |      |      | 38   |      |      |      |
| Цистин — 0,05 %                | 74    |       |      |      | 38   |      |      |      | 38   |      |      |      |
| Аланин — 0,05 %                | 74    |       |      |      | 38   |      |      |      | 38   |      |      |      |
| Сутки роста                    | 2     | 3     | 5    | 7    | 2    | 3    | 5    | 7    | 2    | 3    | 5    | 7    |
| Биомасса абс. сух., г/100 мл   | 1,9   | 1,5   | 1,1  | 0,95 | 1,1  | 2,3  | 2,52 | 1,26 | 0,7  | 1,0  | 1,1  | 1,52 |
| Липиды, %                      | 20,2  | 32,50 | 35,2 | 57,9 | 11,4 | 16,0 | 54,5 | 28,3 | 24,8 | 24,0 | 79,3 | 85,4 |
| рН                             | 6,0   | 5,5   | 5,5  | 5,0  | 6,0  | 6,0  | 5,0  | 5,0  | 5,8  | 5,5  | 5,0  | 4,5  |

Кроме азотсодержащих компонентов в среде содержались:

- глюкоза — 5,0 %
- 0,05 %
- 0,1 %

- Дрожжевой автолизат — 0,2 %
- 0,2 мг/л
- 0,2 мг/л
- 0,1 мг/л
- 10, мг/л

## РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

В первой серии опытов была прослежена динамика роста и образования внутриклеточных липидов в культуре гриба при развитии на среде 12.

Результаты исследований этих процессов (на 2, 3, 5, 7-е сутки культивирования) приведены в табл. 1. Видно, что интенсивный рост гриба закан-



чивается через 2 суток, после чего наступает резкое снижение количества биомассы. К моменту максимального ее накопления уровень содержания липидов составляет примерно 20% от веса сухого мицелия. Однако в период падения скорости роста культуры синтез липидов продолжается. Представляет особый интерес то, что уровень содержания липидов интенсивно возрастает с 5 по 7 сутки (почти на 100%), достигая в испытанных условиях — 57,0% от веса сухого мицелия.

На среде 12а, т. е. при увеличении концентрации азотсодержащих компонентов в 2 раза (табл. 1), наблюдается несколько иная закономерность, а именно, усиление процессов накопления биомассы. Уровень ее возрастает до 2,5% веса сухого мицелия (на 5-е сутки культивирования). В период интенсивного роста (на 3-е сутки) синтезируется всего лишь третья часть максимально образуемых культурой липидов. Период интенсивного синтеза липидов (до 54,5%) совпадает с затуханием процессов роста культуры (3—5 сутки), после чего наступает явный автолиз и резкое снижение количества липидов.

В третьем варианте опытов на среде 12б с увеличенным числом азотсодержащих компонентов (при добавлении к среде 12 триптофана, лизина, цистина и аланина) процессы роста культуры замедляются, биомасса медленно возрастает в течение всего периода культивирования. На 7-е сутки явного автолиза не наблюдается. В этих условиях происходит наиболее интенсивный биосинтез липидов, содержание которых может достигать 79—85% от веса сухого мицелия. Происходит массовое ожирение культуры. Увеличение количества экстрагируемых липидов по мере старения и деградации некоторых бактериальных культур наблюдал Батраков с сотрудниками [1].

Далее был изучен жирнокислотный липид и изменение его в процессе развития культуры на трех вышеуказанных вариантах сред. Как видно из табл. 2, в липидах, синтезируемых на среде 12, обнаружены насыщенные и ненасыщенные ( $C_{14}$ — $C_{20}$ ) жирные кислоты, в основном — соединения с четным числом и прямой цепью атомов углерода. В сумме этих соединений преобладают пальмитиновая,

пальмитолеиновая и олеиновая кислоты, максимальный уровень которых составляет 21,4; 16,1; 40,8% соответственно. Низкомолекулярные соединения ( $C_8$ — $C_{12}$ ) обнаружены в незначительном количестве (до 5,4% от общей суммы жирных кислот). Следует особо отметить, что исследуемая культура синтезирует на указанной синтетической среде  $C_{20}$  ненасыщенную жирную кислоту.

В целом липиды характеризуются высокой ненасыщенностью: сумма ненасыщенных жирных кислот достигает 75,6% в основном за счет пальмитолеиновой, олеиновой и  $C_{20}$  ненасыщенных жирных кислот.

Представило интерес выяснить, сказывается ли изменение количества и химическая природа азотсодержащих компонентов в среде на композицию жирных кислот в составе липидов.

Качественный состав жирных кислот липидов, синтезированных на всех трех вариантах сред, примерно одинаков (табл. 2: среда 12, 12а и 12б) и остается довольно стабильным на протяжении 7 суток культивирования; различия обнаруживаются в их количественных соотношениях и во время наступления максимума в содержании некоторых из них. Наиболее заметные количественные изменения относятся к жирным кислотам, которые преобладают в составе липидов. Жирная кислота  $C_{20x}$  обнаруживается уже в 48-часовой культуре в количестве от 3,2% до 12,6%. Максимальное содержание ее наблюдается на среде 12а и на 3-и сутки, в то время как на среде 12 максимум наступает значительно позднее. Среда 12б не способствует накоплению высокомолекулярной кислоты и уровень ее содержания остается довольно низким на протяжении всего периода развития культуры.

Во всех вариантах опытов низкомолекулярные жирные кислоты ( $C_8$ — $C_{12}$ ) составляют лишь 2,0 — 6,7%. Коэффициент насыщенности липидов в динамике роста культуры на среде 12б наиболее высокий и изменяется от 0,60 до 0,47; на среде 12а — от 0,41 до 0,45 и на среде 12 — от 0,34 до 0,44.

Свойство культур образовывать экзоцеллюлярные липиды в процессе роста распространено среди микроорганизмов, что показано в серии исследований Залашко с сотрудниками [5].



Жирнокислотный состав внутриклеточных липидов в процессе роста гриба на среде 126 с органическими азотсодержащими соединениями

| Жирные кислоты                       | С Р Е Д А           |       |       |       |       |       |       |       |       |       |       |       |
|--------------------------------------|---------------------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|
|                                      | 12                  |       |       |       | 12а   |       |       |       | 126   |       |       |       |
|                                      | С у т к и р о с т а |       |       |       |       |       |       |       |       |       |       |       |
|                                      | 2                   | 3     | 5     | 7     | 2     | 3     | 5     | 7     | 2     | 3     | 5     | 7     |
| От C <sub>8</sub> до C <sub>12</sub> | 3,83                | 5,42  | 3,65  | 4,80  | 6,74  | 5,92  | 5,47  | 5,37  | 5,56  | 2,82  | 2,06  | 5,75  |
| C <sub>14</sub> :0                   | 5,78                | 6,27  | 5,72  | 5,65  | 5,45  | 6,70  | 6,57  | 5,53  | 5,57  | 8,15  | 7,32  | 1,06  |
| C <sub>16</sub> :0                   | 18,20               | 15,87 | 16,70 | 21,42 | 20,19 | 19,44 | 18,56 | 19,57 | 26,12 | 22,51 | 18,00 | 22,13 |
| C <sub>16</sub> :1                   | 13,35               | 16,10 | 14,14 | 12,11 | 14,18 | 12,32 | 14,56 | 15,03 | 14,21 | 12,57 | 15,89 | 18,63 |
| C <sub>18</sub> :0                   | 5,64                | 3,24  | 3,56  | 2,12  | 3,83  | 2,40  | 3,61  | 3,75  | 3,45  | 5,27  | 4,83  | 7,11  |
| C <sub>18</sub> :1                   | 35,72               | 35,57 | 40,42 | 40,81 | 38,61 | 29,84 | 39,86 | 33,61 | 41,78 | 37,50 | 42,23 | 31,49 |
| C <sub>18</sub> :2                   | 2,66                | 4,70  | 2,52  | 2,73  | 2,65  | 4,36  | 4,98  | 5,48  | сл    | 2,44  | 2,73  | 2,96  |
| C <sub>18</sub> :3                   | 1,92                | 2,30  | 1,92  | 2,33  | 2,65  | сл    | 1,47  | 2,55  | сл    | сл    | 0,41  | 1,33  |
| C <sub>20</sub> :x                   | 12,67               | 11,92 | 16,64 | 10,33 | 10,90 | 16,16 | 9,20  | 6,88  | 3,26  | 6,70  | 5,08  | 8,82  |
| Сумма насыщенных жирных кислот, %    | 29,62               | 25,38 | 25,98 | 29,19 | 29,47 | 28,54 | 28,74 | 28,85 | 35,93 | 35,93 | 30,15 | 30,30 |
| Сумма ненасыщенных жирных кислот, %  | 66,32               | 70,59 | 75,64 | 68,31 | 68,39 | 62,99 | 70,07 | 63,55 | 59,25 | 59,21 | 66,24 | 63,17 |
| Коэффициент насыщенности             | 0,44                | 0,35  | 0,34  | 0,42  | 0,42  | 0,45  | 0,41  | 0,45  | 0,59  | 0,60  | 0,45  | 0,47  |

проведенными с дрожжевыми организмами.

В данной работе мы не ставили непосредственную цель изучить способность гриба к образованию внеклеточных липидов. Однако результаты проведенного нами анализа липидов, экстрагируемых из культуральной жидкости после длительного выращивания гриба (на 7-е сутки роста), представляют определенный интерес. Жирнокислотный состав внеклеточных липидов в основном был близок по качественным показателям к составу внутриклеточных липидов (табл. 2 и 3).

Таблица 3

Жирнокислотный состав липидов культуральной жидкости на 7-е сутки развития гриба

| Кислота                          | Среда |       |       |
|----------------------------------|-------|-------|-------|
|                                  | 12    | 12а   | 12б   |
| C <sub>8</sub> — C <sub>12</sub> | 12,51 | 6,50  | 0,79  |
| C <sub>14</sub> : 0              | 4,09  | 5,77  | 6,81  |
| C <sub>x</sub>                   | 5,22  | 2,23  | 1,46  |
| C <sub>16</sub> : 0              | 15,32 | 21,78 | 12,48 |
| C <sub>16</sub> ; 1              | 9,82  | 14,40 | 7,76  |
| C <sub>x</sub>                   | 3,97  | 0,60  | 1,10  |
| C <sub>18</sub> ; 0              | 4,91  | 4,20  | 1,22  |
| C <sub>18</sub> : 1              | 28,10 | 36,66 | 23,30 |
| C <sub>18</sub> ; 2              | 2,35  | 3,08  | 2,06  |
| C <sub>18</sub> : 3              | Сл    | Сл    | 2,00  |
| C <sub>x</sub>                   | 4,43  | —     | 2,49  |
| C <sub>20</sub> : x              | 8,02  | 6,43  | 40,90 |

Обозначение C<sub>x</sub> — неидентифицированные жирные кислоты

Наряду со сходством были выявлены и различия. Наиболее существенные различия наблюдаются в липидах культуральной жидкости при развитии микроорганизма на среде 12 и 12б. Так, на среде 12б относительное содержание пальмитиновой, пальмитолеиновой, стеариновой и олеиновой кислот значительно ниже, а суммарное количество неидентифицированных жирных кислот выше в липидах культуральной жидкости, чем во внутриклеточных липидах. Во внеклеточных липидах обнаруживаются вы-

сокомолекулярные кислоты в количестве 10,9% и ряд других соединений с более короткой цепью атомов углерода. Молекулярная структура этих соединений пока не установлена.

Данные табл. 1 иллюстрируют особенности протекания процессов роста и автолиза в культуре гриба на разных вариантах сред. Рост гриба на среде 12б (в отличие от сред 12 и 12а) протекает замедленно: явного автолиза за исследованный период времени не наблюдается и это сопровождается интенсивным синтезом липидов. Эти условия способствуют накоплению внеклеточных высокомолекулярных кислот. Внеклеточные липиды и жирные кислоты являются результатом выделения этих соединений в период явного старения культур. Однако последний пример (опыт на среде 12б) свидетельствует о том, что образование внеклеточных липидов может происходить и в культуре, в которой нет явного автолиза.

Сравнительный анализ полученных данных показывает высокую интенсивность синтеза липидов при выращивании гриба на синтетической среде, содержащей аминокислоты — глицин, глутаминовую кислоту, лейцин и аспарагин. Увеличение содержания этих соединений в среде способствует росту культуры, при этом образование липидов в первые трое суток развития микроорганизма снижается.

Дополнительное внесение в среду триптофана, лизина, цистина и аланина приводит к снижению темпов роста и к усилению процесса ожирения культуры.

На метаболизм микроорганизмов могут оказывать существенное влияние различные факторы. В частности, процессы роста культуры и синтеза липидов во многом зависят от величины рН, концентрации источников углерода и азота и их соотношения в среде.

Однако анализ данных, полученных нами, показал, что во всех 3-х вари-

ანთაх сред уровни величин рН в процессе развития микроорганизма сходны. Кроме того, соотношения С/Н на средах 12а и 12б равны и составляют 38/1. Очевидно, в данных случаях интенсивность процессов развития культуры, биосинтеза липидов и их состав на средах с различным содержанием азотсодержащих компонентов (аминокислот) определяются иными факторами. Так, имеются сведения [7], что некоторые аминокислоты могут участвовать в стимуляции

или ингибирования процессов роста микроорганизмов. В своих опытах мы наблюдали снижение темпов роста культуры при дополнительном внесении в среду триптофана, лизина, цистина и аланина (среда 12б).

Приведенные факторы свидетельствуют о специфичности отношения исследуемой культуры гриба к экзогенным азотсодержащим соединениям различной химической структуры и о заметном воздействии их на интенсивность роста и липогенез.

## ЛИТЕРАТУРА

1. Батраков С. Г., Ушакова Н. А., Гусев М. В. Изв. АН СССР, сер. биол., 1, 72—79, 1979.
2. Безбородов А. М. Биосинтез биологически активных веществ микроорганизмами, «Медицина», Л., 1969.
3. Бехтерева М. Н., Дедюхина Э. Г. Прикл. биохим. и микробиол., 3, 4, 451—457, 1967.
4. Билай В. И. Фузарии, «Наукова думка», Киев, 1977.
5. Залашко М. В. Биосинтез липидов дрожжами, «Наука и техника», Минск, 1971.
6. Казанская Т. Б., Лезуй Линь, Бехтерева М. Н. Микробиология, XIV, 605—670, 1975.
7. Рубан Е. Л., Лобырева Л. Б. Тезисы докладов и научных сообщений совещания 20—24 августа, Рига, 1968, 31.
8. Черменский Д. Н., Безбородов А. М. Микробиология, XXXVIII, 644—647, 1969.

საკვები არის ორგანული აზოტზემცველი კომპონენტების  
გავლენა მიკროსკოპული სოკოს (გვარი ENTOMOPHTHORA)  
ზრდასა და ლიპოგენეზზე

მ. სამაღაველი, მ. გიხტირაძე

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

რ ე ზ ი მ ე

შესწავლილია სინთეზურ საკვებ არეზე განვითარებისას აზოტზემცველი შენაერთების (ამინომჟავების და მათი ამიდეების) გავლენა მიკროსკოპული სოკოს (Entomophthora) ზრდასა და ლიპიდების წარმომქმნაზე და ცხიმოვანი მჟავების შემადგენლობაზე.

მიღებული შედეგები მოწმობს საკვლევი კულტურის სპეციფიკურ დამოკიდებულებას აზოტზემცველი შენაერთების მიმართ და ამ ნაერთების შესამჩნევ ზეგავლენას კულტურის ზრდის ინტენსიობასა და ლიპოგენეზზე.

INFLUENCE OF ORGANIC NITROGEN-CONTAINED COMPONENTS  
GROWTH AND LIPOGENESIS OF MICROSCOPIC FUNGUS OF  
ENTOMOPHTHORA GENERIS



M. N. SAMADASHVILI, M. N. BEKHTEREVA

N. Ketskhoverly Botanical Institute, Georgian Academy of Sciences, Tbilisi, USSR  
Institute of Microbiology of the USSR Academy of Sciences, Moscow

S u m m a r y

Influence of organic nitrogen-contain-  
ed compounds (amino acids and their  
amides) on growth, formation of lipids  
and their fatty acid composition of mi-  
croscopic fungus of entomophthoraceae fa-  
mily when cultivating it on synthetical

medium, is studied. The results obtained  
indicate the particular relations of re-  
searched crops and exogeneous nitrogen-  
contained compounds of different chemical  
structures and their appreciable influence  
on growth intensity and lipogenes.

УДК 577.3

БИОФИЗИКА

## ПЕРЕНОС ЗАРЯДА ЧЕРЕЗ МОДЕЛЬНУЮ БИОЛОГИЧЕСКУЮ МЕМБРАНУ

З. Д. Урушадзе

Грузинский сельскохозяйственный институт, Тбилиси

Поступила в редакцию 18.12.1984

Проведен расчет электрического тока через модельную биологическую мембрану, помещенную в раствор электролита в присутствии электрического поля, когда на поверхностях мембраны протекают окислительно-восстановительные реакции с переносом электрона. Получено выражение для константы скорости реакции переноса заряда через границу двух (полярной и неполярной) сред.

Многочисленные биологические процессы, протекающие на мембранах (процессы ферментативного катализа, возникновения биопотенциалов и др.), тесно связаны с переносом заряда через мембрану. В данной работе рассматриваются окислительно-восстановительные процессы в модельной си-

ходится мембрана. Между левым электродом и мембраной в растворе имеется окислительно-восстановительная система  $O_1/R_1$ ; в самой мембране — окислительно-восстановительная система  $O_2/R_2$ , а между мембраной и правым электродом — окислительно-восстановительная система  $O_3/R_3$ . Соответствующие равновесные concentra-

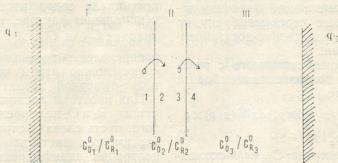


Рис. 1.  $\varphi_1$  и  $\varphi_2$  — электрические потенциалы, приложенные к электродам; М — неполярная мембрана; 1, 2, 3, 4 — внешние и внутренние поверхности мембраны; е — электрон;  $O_1/R_1$ ,  $O_2/R_2$ ,  $O_3/R_3$  — окислительно-восстановительные системы, находящиеся в полярном растворе слева (I) от мембраны, в самой мембране II и в растворе справа (III) от мембраны соответственно;  $C_O^0 / C_R^0$  — равновесные концентрации окислительно-восстановительных систем

стеме следующего вида (рис. 1): между двумя электродами, к которым приложена разность потенциалов ( $\varphi_1 - \varphi_2$ ), в растворе электролита на-

ходят окислительно-восстановительных систем обозначены через  $C_{O_i}^0 / C_{R_i}^0$  /  $i = 1, 2, 3$ .

Благодаря протеканию на поверхностях мембраны окислительно-восстановительных реакций через мембрану будет протекать электрический ток. В настоящей работе проведен расчет электрического тока через мембрану учитывая, что она обладает достаточно высокой проводимостью и что процесс диффузии реагентов в растворе электролита происходит достаточно быстро. Замедленной стадией переноса заряда через мембрану мы будем предполагать окислительно-восстановительную реакцию на поверхности мембраны. При этом средой, сильно взаимодействующей с реагентами, будем считать полярный электролит, а в мембране — неполярную белково-липидную систему [1]. Для описания среды мы будем использовать гармоническое приближение. Эта картина довольно близка к реальной ситуации в случае окислительно-восстановительных ферментов типа цитохромов. В митохондриях мембраны с обеих сторон окружены сложной смесью окислителей и восстановителей. Сама цитохромная система также представляет собой набор ряда ферментов. Однако предлагаемая нами упрощенная теоретическая схема с ограниченным числом частиц, участвующих в процессе, позволяет выявить принципиальную сторону переноса заряда через мембрану и дать количественные формулы, связывающие величину тока, протекающего через мембрану, со скоростью окислительно-восстановительной реакции.

Плотность тока, связанного с реакцией на левой поверхности мембраны, запишем в виде [3]:

$$\vec{i} = e \int dx_1 C_{R_1}(x_1) \int 2\pi \rho d\rho dx W(x; \rho) \times C_{O_2} |_{R_1}(x, \rho), \quad (1)$$

где  $e$  — заряд электрона;  $C_{R_1}(x_1)$  — локальная концентрация частиц  $R_1$  в плоскости 1 с координатой  $X_1$  (рис. 2);  $C_{O_2} |_{R_1}(x, \rho)$  — локальная концентрация частиц  $O_2$  в плоскости 2, находящейся на расстоянии  $x$  от плоскости 1  $|x = |x_1 - x_2|$ , где  $x_2$  — координата плоскости 2;  $\rho$  — расстояние от частицы  $R_1$  до проекции частицы  $O_2$  на плоскость 1 (при условии, что частицы  $R_1$  находятся в плоскости 1);  $W(x; \rho)$  — вероятность перехода электрона с частицы  $R_1$  на частицу  $O_2$  в единицу времени.

Учитывая, что в рассматриваемой системе, как и в гомогенной среде, существует реакционный объем  $\delta V_2 = \pi(\delta\rho)^2 \delta z$  ( $\delta z$  и  $\delta\rho$ , суть те значения  $X_2$  и  $X_1$ , при которых вероятность перехода достигает своего максимального значения  $W^*$  (для частиц  $R_1$  и  $O_2$ ), можно ввести понятие поверхностной концентрации  $C_{R_1}^s = C_{R_1}(\delta_1) \delta_1$  и записать формулу (1) в виде:

$$\vec{i} = e W^* C_{R_1}^s C_{O_2} |_{R_1} \delta V_2. \quad (2)$$

Согласно [1, 2] формулу (2) перепишем следующим образом:

$$\vec{i} = e C_{R_1}^s C_{O_2}^s \delta S^* \alpha \frac{\omega_{эфф}}{2\pi} \times \exp \left\{ -\frac{[E_s + \Delta I_o + e(\eta_1 - \eta_2)]^2}{4 E_s kT} \right\}, \quad (3)$$

где  $\alpha$  — трансмиссионный коэффициент,  $\omega_{эфф}$  — эффективная частота колебаний среды,  $E_s$  — энергия реорганизации среды,  $\Delta I_o$  — тепловой эффект реакции в случае термодинамического равновесия (ток равен нулю),  $\eta_1 = \varphi_1 - \varphi_1^0$  — перенапряжение в точке 1 ( $\varphi_1^0$  — равновесный потенциал в точке 1),  $\eta_2$  — перенапряжение в точке 2 (рис. 1).

В формуле (3) зависимость тока от потенциала содержится как в экспоненциальном факторе, так и в концентрациях  $C_{R_1}^s$  и  $C_{O_2} |_{R_1}$ . При известном распределении потенциала во всей системе можно найти конкретный вид вольт-амперной характеристики.

Для простоты предположим, что частицы  $R_1$  и  $O_2$  не коррелируют. Кроме того, пусть слева и справа от мембраны имеется настолько большая концентрация индифферентного электролита, что все падение потенциала сосредоточено в слое Гельмгольца. В этом случае  $C_{R_1}^s$  совпадает с объемной концентрацией и не зависит от потенциала. Тогда, ток, идущий из левой части системы в мембрану (переход 1—2), выразится формулой:

$$\vec{i}_l(\eta) = e C_{R_1}^s C_{O_2}^s(\eta_2) \delta S^* \alpha \frac{\omega_{эфф}}{2\pi} \times \exp \left\{ -\frac{[E_s^l + \Delta I_o^l + e(\eta_1 - \eta_2)]^2}{4 E_s^l kT} \right\}, \quad (4)$$

где  $E_s^I$  — энергия реорганизации как полярного растворителя слева от мембраны, так и самой неполярной мембраны.

Рассматривая совместно процессы, идущие на обеих поверхностях мембран, следует различать два случая: 1 — когда на одной поверхности протекает очень быстрая окислительно-восстановительная реакция; 2 — когда скорости процессов на обеих поверхностях сравнимы. В первом случае при достаточно большой разности потенциалов выполняются условия:

$$\begin{aligned} \vec{i}_{12} \gg \vec{i}_{21}, \quad \vec{i}_{34} \approx \vec{i}_{43} \\ i = \vec{i}_{12} - \vec{i}_{21} = \vec{i}_{34} - \vec{i}_{43}, \end{aligned} \quad (5)$$

где  $i$  — результирующий ток, протекающий через мембрану;  $\vec{i}_{12}$  и  $\vec{i}_{21}$  — токи, протекающие через поверхность 1—2 в прямом и обратном направлениях,  $\vec{i}_{34}$  и  $\vec{i}_{43}$  — токи, текущие через поверхность 3—4 в прямом и обратном направлениях.

На опыте, обычно, измеряется разность потенциалов  $\Delta\phi$ , поданная прямо на мембрану. Поскольку токи  $\vec{i}_{12}$ ,  $\vec{i}_{21}$  и  $\vec{i}_{34}$ ,  $\vec{i}_{43}$  пропорциональны концентрациям окислительно-восстановительных систем. то условия (5) можно практически реализовать путем надлежащего выбора концентраций окислительно-восстановительных систем слева и справа от мембраны. В частности, условия (5) реализуются, если

$$C_{R_1} C_{O_1} \ll C_{R_3} C_{O_3}. \quad (6)$$

Воспользовавшись связью между прямым и обратным током, результирующий ток через мембрану можно представить в виде:

$$i = \vec{i}_{12} \left( 1 - \left( \frac{\vec{i}_{21}}{\vec{i}_{12}} \right) \right) = \vec{i}_{12} \left[ 1 - \exp \left( - \frac{\Delta\mu_{12}}{kT} \right) \right], \quad (7)$$

где  $\Delta\mu_{12}$  — разность химических потенциалов электрона на поверхностях 1 и 2.

Если перенапряжение  $\eta_1$  достаточно велико, то  $i \sim \vec{i}_{12}$ , а  $\Delta\mu_{12} \gg kT$ .

На правой границе

$$i = \vec{i}_{34} - \vec{i}_{43} = \vec{i}_{34} \left( 1 - \frac{\vec{i}_{43}}{\vec{i}_{34}} \right) = \vec{i}_{34} \times \left[ 1 - \exp \left( - \frac{\Delta\mu_{34}}{kT} \right) \right], \quad (8)$$

где  $\Delta\mu_{34} = \mu_3^e - \mu_4^e < 0$  и

$$\frac{i}{\vec{i}_{34}} = 1 - \exp \left( - \frac{\Delta\mu_{34}}{kT} \right), \quad \text{т. е. } \Delta\mu_{34} = 0 \quad (9)$$

Условие (9) задает концентрации  $C_{R_2}$  и  $C_{R_3}$  однозначно, независимо от перенапряжения на мембране, так как  $\mu_3$  определяется концентрациями  $C_{R_2}$  и  $C_{O_2}$ , а  $\mu_4$  — концентрациями  $C_{R_3}$  и  $C_{O_3}$ , которые считаются не зависящими от потенциала. Таким образом (9) выражает одно условие для определения концентраций. Второе условие задается равенством:

$$C_{R_2} + C_{O_2} = C_2 = \text{const}. \quad (10)$$

В результате величины  $C_{R_2}$  и  $C_{O_2}$  можно выразить через  $C_2$ ,  $C_{R_3}$  и  $C_{O_3}$ .

Теперь рассмотрим случай, когда скорости процессов на обеих поверхностях мембраны примерно равны. При этом будем считать, что  $\Delta\mu_{12}, \Delta\mu_{34} \gg kT$ . Приравняв токи  $\vec{i}_{12}$  и  $\vec{i}_{34}$ , мы получим дополнительное ограничение на  $C_{R_2}$  и  $C_{O_2}$  и, учитывая условие (10), из этих двух уравнений найдем по-отдельности  $C_{R_2}$  и  $C_{O_2}$  как функции от перенапряжения. Напишем выражение для плотности тока, связанного с переходом электрона из мембраны в правую часть системы:

$$\vec{i}_{11}(\mu) = e C_{R_2}^s(\eta_3) C_{O_1}^s \delta S^* \times \frac{\omega_{3\Phi\Phi}}{2\pi} \times \exp \left\{ - \frac{[E_s^{II} + \Delta I_0^{II} + e(\eta_3 - \eta_4)]^2}{4 E_s^{II} kT} \right\}, \quad (11)$$

где

$$\Delta I_0^{II} = \varepsilon_{O_1} - e\varphi_4^0 + \alpha_{R_1} - \varepsilon_{R_2} + e\varphi_3^0 - \alpha_{O_1}. \quad (12)$$

В этой формуле  $\epsilon_{0_1}$  и  $\epsilon_{R_2}$  — энергии электрона в частицах  $O_1$  и  $R_2$ ;  $\alpha$  — энергия сольватации соответствующих ионов, а  $E_s^{II}$  — энергия реорганизации среды (самой мембраны и полярного электролита справа от нее).

Просуммировав эти выражения, увидим, что

$$\Delta I_0^{II} = e(\varphi_1^0 - \varphi_2^0) + e(\varphi_3^0 - \varphi_4^0) - \Delta I_0^I \quad (17)$$

Обозначив

$$\varphi_1^0 - \varphi_2^0 \equiv \Delta\varphi_{12}^0 \text{ и } \varphi_3^0 - \varphi_4^0 \equiv \Delta\varphi_{34}^0,$$

получаем другую запись выражения (17):

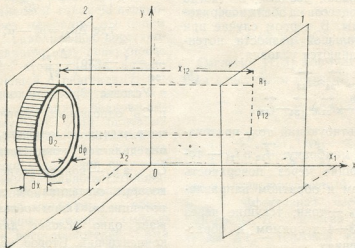


Рис. 2. Плоскость, параллельная плоскости  $YOZ$  (1) с координатой  $x_1$ , проходящая через частицу  $R_1$ ; 2 — аналогичная плоскость с координатой  $x_2$ , проходящая через частицу  $O_2$ ;  $\rho = \sqrt{(y_2 - y_1)^2 + (z_2 - z_1)^2}$  — расстояние от частицы  $R_1$  до проекции частицы  $O_2$  на плоскость 1

Приравняв токи  $\vec{i}_i$  и  $\vec{i}_{i'}$  (формулы (4) и (11)) получим:

$$C_{R_1}^s C_{O_2}^s (\eta_2) \exp \left\{ -\frac{[E_s^I + \Delta I_0^I + e(\eta_1 - \eta_2)]^2}{4 E_s^I kT} \right\} = \quad (13)$$

$$= C_{R_2}^s (\eta_3) C_{O_1}^s \exp \left\{ -\frac{[E_s^{II} + \Delta I_0^{II} + e(\eta_3 - \eta_4)]^2}{4 E_s^{II} kT} \right\}$$

В случае, когда восстановленная и окисленная формы отличаются лишь валентным состоянием (как например  $Fe^{+2}/Fe^{+3}$ ),

$$\epsilon_{O_2} = \epsilon_{R_2} = \epsilon_2, \quad \epsilon_{R_1} = \epsilon_{O_1} = \epsilon_1 \text{ и } E_s^I = E_s^{II}. \quad (14)$$

Обозначив  $\alpha_1 = \alpha_{R_1} - \alpha_{O_1}$  и используя условие (14), запишем более компактно выражение для тепловых эффектов  $\Delta I_0^I$  и  $\Delta I_0^{II}$ :

$$\Delta I_0^I = (\epsilon_2 - \epsilon_1) - \alpha_1 - e(\varphi_2^0 - \varphi_1^0), \quad (15)$$

$$\Delta I_0^{II} = (\epsilon_1 - \epsilon_2) + \alpha_1 - e(\varphi_4^0 - \varphi_3^0). \quad (16)$$

$$\Delta I_0^{II} = -\Delta I_0^I + e\Delta\varphi_{14}^0 - e\Delta\varphi_{32}^0, \quad (18)$$

Равенство (13) теперь можно переписать следующим образом:

$$\frac{C_{R_1}^s C_{O_2}^s (\eta_2)}{C_{O_1}^s C_{R_2}^s (\eta_3)} = \exp \left\{ \frac{[E_s + \Delta I_0^I + e(\eta_1 - \eta_2)]^2 - [E_s + \Delta I_0^{II} + e(\eta_3 - \eta_4)]^2}{4 E_s kT} \right\}. \quad (19)$$

Распределение концентраций внутри мембраны можно найти из Больцмановской формулы:

$$C_{R_2}^s(x) = C_{R_2}^s(x_2) \exp \left\{ -\frac{Z_{R_2} e(\varphi - \varphi_2)}{kT} \right\}, \quad (20)$$

$$C_{O_2}^s(x) = C_{O_2}^s(x_2) \exp \left\{ -\frac{Z_{O_2} e(\varphi - \varphi_2)}{kT} \right\}.$$

Концентрация на поверхности 3 мембраны определяется условием:



$$C_{R_2}^s(x_3) = C_{R_2}^s(\eta_3) = \\ = C_{R_2}^s(\eta_2) \exp \left\{ -\frac{Z_{R_2} e (\varphi_3 - \varphi_2)}{kT} \right\}. \quad (21)$$

Окончательно формула (19) приводится к виду:

$$\frac{C_{O_2}^s(\eta_2)}{C_{R_2}^s(\eta_2)} = \\ = \frac{C_{O_1}^s}{C_{R_1}^s} \exp \left\{ \frac{(E_s + \Delta I')^2 - (E_s + \Delta I'')^2}{4 E_s kT} + \right. \\ \left. + \frac{Z_{R_2} e \Delta \varphi_{32}}{kT} \right\}. \quad (22)$$

Число окисленной и восстановленной форм реагентов ( $N_{O_2}$  и  $N_{R_2}$ ) находится из формул:

$$N_{R_2} = S \int_2^3 C_{R_2}(x) dx,$$

$$N_{O_2} = S \int_2^3 C_{O_2}(x) dx \quad (23)$$

или

$$N_{R_2} = S C_{R_2}(x_2) \int_2^3 dx \times \\ \times \exp \left\{ -\frac{Z_{R_2} e [\varphi(x) - \varphi_2]}{kT} \right\},$$

$$N_{O_2} = S C_{O_2}(x_2) \int_2^3 dx \times \\ \times \exp \left\{ -\frac{Z_{O_2} e [\varphi(x) - \varphi_2]}{kT} \right\}. \quad (24)$$

Окончательно получаем систему уравнений:

$$\frac{N_{R_2}}{N_{O_2}} = \frac{C_{O_1}}{C_{R_1}} \times \\ \times \exp \left\{ \frac{[E_s + \Delta I']^2 - (E_s + \Delta I'')^2}{4 E_s kT} + \right. \\ \left. + \frac{Z_{R_2} e \Delta \varphi_{32}}{kT} \right\} \times$$

$$\times \frac{\int_2^3 dx \exp \left\{ -\frac{Z_{R_2} e [\varphi(x) - \varphi_2]}{kT} \right\}}{\int_2^3 dx \exp \left\{ -\frac{Z_{O_2} e [\varphi(x) - \varphi_2]}{kT} \right\}} \quad (25)$$

$$N_{R_2} + N_{O_2} = N.$$

Эту систему уравнений относительно  $N_{R_2}$  и  $N_{O_2}$  можно разрешить, поскольку все параметры (включая потенциалы) считаем заданными. Предположим, что  $E_s \gg \Delta I', \Delta I''$  и что внутри мембраны потенциал распределен линейно:

$$\varphi(x) = \varphi_2 + \frac{\varphi_3 - \varphi_2}{\delta} x, \quad (26)$$

где  $\delta$  — толщина мембраны. Обозначим среднюю концентрацию реагентов в мембране через  $\bar{C} = N/V_m$  ( $V_m$  — объем мембраны).

В этом случае формулу (25) можно переписать в виде:

$$\frac{\bar{C}_{R_2}}{\bar{C}_{O_2}} = \frac{C_{O_1}}{C_{R_1}} \exp \left( \frac{\Delta I' - \Delta I''}{kT} + \frac{Z_{R_2} e \Delta \varphi_{32}}{kT} \right) \times \\ \times \frac{\int_2^3 dx \exp \left( -Z_{R_2} e \frac{\varphi_3 - \varphi_2}{\delta} x / kT \right)}{\int_2^3 dx \exp \left( -Z_{O_2} e \frac{\varphi_3 - \varphi_2}{\delta} x / kT \right)}. \quad (27)$$

Пусть  $x_2 = 0$ . Тогда  $x_3 = \delta$  и формула (27) может быть переписана следующим образом:

$$\frac{\bar{C}_{R_2}}{\bar{C}_{O_2}} = \frac{Z_{O_2}}{Z_{R_2}} \frac{C_{O_1}}{C_{R_1}} \times \\ \times \exp \left( \frac{\Delta I' - \Delta I''}{2 kT} \right) \frac{\exp(Z_{R_2} e \Delta \varphi_{32} / kT) - 1}{1 - \exp(-Z_{O_2} e \Delta \varphi_{32} / kT)}. \quad (28)$$

Вычтя формулу (16) из формулы (15), определим  $(\Delta I' - \Delta I'')$ :

$$\Delta I' - \Delta I'' = 2(\varepsilon_2 - \varepsilon_1) - \\ - 2\alpha_1 - e(\varphi_2 - \varphi_1) + e(\varphi_4 - \varphi_3). \quad (29)$$

В качестве примера рассмотрим случай, когда  $Z_{O_2} = 0$ . Тогда  $Z_{R_2} = -1$  и по формуле (28) получаем:

$$\frac{\bar{C}_{R_2}}{\bar{C}_{O_2}} = \frac{kT}{e\Delta\Phi_{32}} \frac{C_{O_1}}{C_{R_1}} \times \exp\left(\frac{\Delta I' - \Delta I''}{2kT}\right) \left\{ \exp\left(\frac{e\Delta\Phi_{23}}{kT}\right) - 1 \right\} \quad (30)$$

Это выражение еще более упрощается, если считать, что падение потенциала в мембране меньше  $kT$ . Тогда формула (30) приобретает следующий вид:

$$\frac{\bar{C}_{R_2}}{\bar{C}_{O_2}} = \frac{C_{O_1}}{C_{R_1}} \exp\left(\frac{\Delta I' - \Delta I''}{2kT}\right). \quad (31)$$

#### ЛИТЕРАТУРА

1. Урушадзе З. Д., Хидурели В. К. В сб.: Биохимия растений, «Мецниერება», Тбилиси, 1973.  
2. Урушадзе З. Д. Сообщения АН ГССР, 61, 3, 681—683, 1971.

Аналогично рассмотрим случай, когда  $Z_{R_2} = 0$  и  $Z_{O_2} = 1$ . Для этого случая по формуле (28) получаем:

$$\frac{\bar{C}_{R_2}}{\bar{C}_{O_2}} = \frac{e\Delta\Phi_{32}}{kT} \frac{C_{O_1}}{C_{R_1}} \times \exp\left(\frac{\Delta I' - \Delta I''}{2kT}\right) \frac{1}{1 - \exp(-e\Delta\Phi_{32}/kT)} \quad (32)$$

или

$$\frac{\bar{C}_{O_2}}{\bar{C}_{R_2}} = \frac{kT}{e\Delta\Phi_{23}} \frac{C_{R_1}}{C_{O_1}} \times \exp\left(\frac{\Delta I' - \Delta I''}{kT}\right) \left\{ \exp\left(\frac{e\Delta\Phi_{23}}{kT}\right) - 1 \right\}. \quad (33)$$

По этой же схеме можно рассмотреть случай разных зарядовостей окислительно-восстановительных систем в мембране.

#### მუხტის გადატანა მოდელოზ გიოლოგიურ მიმბრანაში

ზ. ურუშადე

საქართველოს სასოფლო-სამეურნეო ინსტიტუტი, თბილისი

რეზიუმე

გამოთვლილია მოდელოზ ბიოლოგიურ მიმბრანაში (არაპოლარულ გარემოში) გამავალი ელექტროლი დენი, როდესაც მიმბრანის ზედაპირზე მიმდინარეობს უანგვა-აღდგენითი რეაქციები ელექტრონის გადატანით. მიღებულია პოლარულ და

არაპოლარულ გარემოთა საზღვარზე მუხტის გადატანის რეაქციის სიჩქარის კონსტანტა. მიმბრანაში არსებული უანგვა-აღდგენითი სისტემის კომპონენტთა კონცენტრაციები ცნობილი სიდიდეებით არის გამოსახული.

#### THE CHARGE TRANSFER ACROSS THE MODEL BIOLOGICAL MEMBRANE

Z. D. URUSHADZE

Georgian Agricultural Institute, Tbilisi, USSR

#### S u m m a r y

Electric current across the model biomembrane (nonpolar media), when redox reactions proceed on the membrane surface is calculated. Expression is obtained for the constant of the charge transfer

reaction rate across the bond of the polar and nonpolar media. The concentration of redox reagents of the membrane are expressed in the known values.

УДК 577.391 : 547.963.3

РАДИОБИОЛОГИЯ

## ВЛИЯНИЕ РЕНТГЕНОВСКОГО ОБЛУЧЕНИЯ НА Na, K-АТФазную СИСТЕМУ ПЛАЗМАТИЧЕСКИХ МЕМБРАН

Д. В. Чиквашвили

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

Поступила в редакцию 20.12.1984

Показано, что под влиянием рентгеновского облучения в дозах 1,75—12,25 Гр резко снижается уровень Na, K-АТФазной активности плазматических мембран головного мозга крыс. Торможение Na, K-АТФазы несоразмерно с ростом активности Mg-АТФазы; пара-нитрофенилфосфатазная (пНФФ) активность препарата изменяется аналогично Na, K-АТФазной. Однако влияние рентгеновского облучения не выражается в изменении функционирования пНФФазы в двух различных режимах, с одним или двумя калий-активаторными участками.

Нарушение функции и структуры мембран является одним из ведущих в числе возникающих первичных радиационных повреждений [7]. Ранее отмечалась радиочувствительность мембран изолированных ядер и глиальных клеток [8]. Эти процессы тесно связаны с функцией АТФаз [9]. По данным исследований АТФазных систем различных органелл клеток печени очевидно, что эта система проявляет высокую радиочувствительность, выраженную в изменении активности в ранние сроки после воздействия ра-

диации [4]. Учитывая различную распространенность Na, K-АТФазы по органам [3] и отличающуюся тканевую радиочувствительность, невозможно однозначно интерпретировать результаты. Большой интерес представляет изучение Na, K-АТФазной системы плазматических мембран головного мозга под действием рентгеновского облучения. Практически отсутствуют работы по изучению пНФФазной реакции данной системы в облученном организме.

### МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ

Исследования проводили на мембраном препарате из головного мозга интактных и облученных белых крыс после тотального облучения рентгеновыми лучами в дозе 1,75—12,25 Гр. Условия облучения: аппарат РУМ-17, мощность дозы 0,875 Гр/мин, напряжение 200 кВ, сила тока 15 мА, фильтры Cu 0,5 мм + Al 1,0 мм. Крыс декапитировали через час после

облучения. Получение мембранной фракции и обработку препарата йодистым натрием проводили по ранее разработанной методике [5]. В каждый опыт брали не менее трех крыс, проводя по 3 опыта в каждой серии. Условия определения Na, K-АТФазной и пНФФазной активностей приведены в предыдущих работах [5, 6].

Исследование Na, K-АТФазной активности показало, что под влиянием рентгеновского облучения уровень ее резко снижается. Однако торможение Na, K-АТФазы несоразмерно с ростом активности Mg-АТФазы. Анализируя данные табл. 1, следует за-

Таблица 1

Действие рентгеновского облучения на Mg-АТФазу мембранной фракции головного мозга

| Доза, Гр | Mg-АТФазная активность $R_H$ мкмоль/мг/белка/ч | Достоверность различия |
|----------|--|------------------------|
| —        | 16,0000 ± 1,7081                               |                        |
| 1,75     | 24,2952 ± 0,7461                               | 0,01 < P < 0,02        |
| 3,50     | 29,4840 ± 1,1067                               | 0,01 < P < 0,02        |
| 5,25     | 34,9811 ± 1,4533                               | 0,002 > P > 0,001      |
| 7,00     | 38,1715 ± 1,7584                               | P > 0,001              |
| 8,75     | 40,0438 ± 1,8200                               | P > 0,001              |
| 10,50    | 41,9451 ± 1,4405                               | P > 0,001              |
| 12,25    | 44,0233 ± 1,7227                               | P > 0,001              |

метить, что повышение дозы облучения вызывает резкое увеличение Mg-АТФазной активности. Данный факт свидетельствует о возрастании роли пассивного транспорта ионов в развитии пострадиационных изменений в головном мозгу, что совпадает с результатами, полученными авторами на различных органеллах клеток печени [4, 10].

Известно, что сложный комплекс Na, K-АТФазы состоит из белковой, липидной и углеводной частей [1]. Многие экспериментальные данные указывают на то, что клеточные мембраны, и их липидный матрикс в особенности, являются основным объектом поражения ионизирующим излучением. Интересным представляется исследование данного фермента под влиянием рентгеновского облучения в мембранных препаратах с разной степенью нарушения молекулярной организации. Доказано, что экстракция мембранных препаратов ионным детергентом — дезоксихолатом — способствует удалению липидов. Мы сравнили изменение Mg-АТФазной активности в нативных и дезоксихолатобработанных (ДОХ) препаратах под влиянием рентгеновского облучения.

Как видно из полученных результа-

тов (табл. 2), увеличение Mg-АТФазной активности наблюдается в обоих видах мембранных фракций, независимо от степени нарушения молекулярной организации. Следует заметить, что липидное окружение, удаляемое дезоксихолатом, не является лимитирующим фактором в развитии пострадиационных изменений Mg-АТФазной активности.

При солиubilизации Na, K-АТФазы детергентами круг критериев нативности препарата ограничен только ферментативными реакциями: АТФазной и фосфатазной [2]. Нас интересует вопрос отражается ли действие рентгеновского облучения на Na, K-АТФазной реакции в целом или на частной стадии пНФФазной активности. Данная постановка вопроса вытекает из положения, что облучение действует на пассивный транспорт ионов и, согласно литературным данным, пНФФ не способна индуцировать активный транспорт ионов в клетках в среде без АТФ [11].

Таблица 2

Действие рентгеновского облучения на Mg-АТФазу различных мембранных препаратов головного мозга

| Доза, Гр | Активность мкмоль $R_H$ /мг белка/ч |         |
|----------|-------------------------------------|---------|
|          | Нативные                            | ДОХ     |
| —        | 15,9482                             | 25,9997 |
| 1,75     | 20,9530                             | 32,5356 |
| 3,50     | 26,4932                             | 34,6132 |
| 5,25     | 30,0863                             | 37,6080 |

Ранее мы исследовали пНФФазную активность Na, K-АТФазной системы в интактных организмах [6]. При этом было установлено, что ферментная система может находиться в различных состояниях, которые характеризуются одним или двумя калий-связывающими участками. Переход между двумя режимами с различным числом  $K^+$ -активаторных участков контролируется ионами натрия.

Исследование пНФФазной активности под влиянием рентгеновского облучения показало, что она изменяется параллельно с уменьшением Na, K-АТФазной активности. С целью установления режимов работы пНФФазы в облученном организме мы исследо-

вали зависимость активности Na, K-АТФазной системы от концентрации ионов калия.

На рис. 1 изображена зависимость скорости пНФФазной реакции от концентрации ионов калия ( $2 \text{ мМ} \leq [K^+] \leq 10 \text{ мМ}$ ) при различных значениях кон-

ной системы в новом состоянии с одним калий-связанным участком. Взаимодействуя друг с другом, находящийся в связанном состоянии  $\text{Na}^+$ -участок облегчает присоединение ионов калия и наоборот. Полученные зависимости пНФФазной активности

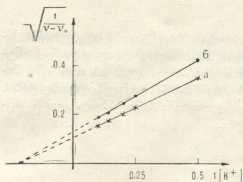


Рис. 1. Зависимость скорости пНФФазной реакции от концентрации ионов калия под действием рентгеновского облучения; А — безнатриевая среда, Б — 10 мМ NaCl

центраций ионов натрия. В данном интервале концентраций пНФФазная реакция обладает двумя калий-активаторными участками. Ионы натрия неконкурентно ингибируют присоединение ионов калия.

В случае малых концентраций ионов калия ( $[K^+] \leq 2 \text{ мМ}$ ) при фиксированных значениях ионов натрия наблюдается действие данной фермент-

#### ЛИТЕРАТУРА

1. Болдырев А. А. Итоги науки и техники. Биологическая химия, 17, 75—140, 1982.
2. Джанджугазян К. Н., Модянов Н. Н., Мустаев А. А. Биологические мембраны, 1, 8, 1984, 823—831.
3. Диксон М., Уэбб Э. Ферменты, 3, «Мир», М., 1982.
4. Иващенко А. Т., Рыскулова С. Т. Тез. докл. Всесоюз. конф. «Механизмы действия радиации на биологические мембраны и возбудимые системы», Тбилиси, «Мецниереба», 1976, 27.
5. Киквидзе З. Я., Чиквашвили Д. В., Кометиани З. П. Биохимия, 47, 11, 1814—1818, 1982.
6. Кометиани З. П., Чиквашвили

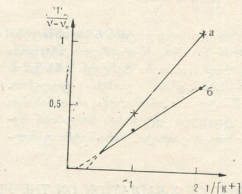


Рис. 2. Влияние рентгеновского облучения на зависимость скорости пНФФазной реакции от концентрации ионов калия: А — безнатриевая среда, Б — 10 мМ NaCl

от концентраций ионов калия в облученном организме идентичны с данными на интактных организмах [6].

Из вышесказанного можно заключить, что действие рентгеновского облучения отражается на активности пНФФазы, которая снижается параллельно с уменьшением Na, K-АТФазной активности, однако не влияет на режимы функционирования данной системы.

- Д. В. Изв. АН ГССР, сер. биол., 9, 6, 400—406, 1983.
7. Кузин А. М. Радиационная биохимия, Изд. АН СССР, М., 1962.
8. Надарейшвили К. Ш., Джохадзе Д. И., Кахнани Э. Д. Радиобиология, 8, 3, 396—403, 1968.
9. Рыскулова С. Т., Иващенко А. Т. Радиобиология, 16, 5, 652—657, 1976.
10. Филимонов М. М. Состояние активности связанной с транспортом ионов натрия и калия аденозинтрифосфатной системы в различных отделах ЦНС в условиях экспериментальной острой лучевой болезни, Автореф. канд. дисс., Минск, 1976.
11. Garrahan P. I., Rega A. F. J. Physiology, 223, 2, 595—617, 1972.

დ. ჩიკვაშვილი

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

რ ე ზ ი მ ე

ვირთავის თავის ტენის პლაზმატური მემბრანების Na, K-ატფაზური აქტივობა მკვეთრად მცირდება რენტგენის სხივების 1,75—12,25 გრეი დოზის გავლენით. Na, K-ატფაზის ინჰიბირება არათანაბარია Mg-ატფაზური აქტივობის ზრდასთან შედარებით. პრეპარატის პარა-ნიტროფენილ-

ფოსფატაზური აქტივობა იცვლება Na, K-ატფაზურის ანალოგიურად. ოღონდ რენტგენის სხივების გავლენა არ არის იმის მიზეზი, რომ პარა-ნიტროფენილფოსფატაზის ფუნქციონირება სხვადასხვა რეჟიმში იცვლება.

## EFFECT OF X-RADIATION ON THE PLASMATIC MEMBRANE Na, K-ATPase SYSTEM

D. V. CHIKVASHVILI

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

### S u m m a r y

X-radiation in the dose of 1.75-12.25 Gy was shown to cause a sharp decrease in the Na, K-ATPase activity of plasmatic membrane from the rat brain. The inhibition of Na, K-ATPase is incompatible with the increase of Mg-ATPase

activity. pNPPase activity changes parallelly with Na, K-ATPase. However, the effect of X-radiation is not expressed in the change of pNPPase functioning in two different states with one or two potassium-activating sites.

УДК 615.012.8 : 661.036.882.07—616.155.32—097.3

КРАТКИЕ СООБЩЕНИЯ

## ПРИМЕНЕНИЕ ЭКСТРАКОРПОРАЛЬНОЙ ПЕРФУЗИИ КРОВИ ЧЕРЕЗ ИММУНОСОРБЕНТ С ЦЕЛЬЮ ИЗВЛЕЧЕНИЯ ИЗ ЦИРКУЛИРУЮЩЕЙ КРОВИ МИКРОБОВ И ИХ ТОКСИНОВ

З. С. ХЕЛАДЗЕ

*Тбилисский государственный медицинский институт*

Поступила в редакцию 4.05.1984

Сепсис и септический шок являются настоящим бичом для реанимационных клиник [2]. Важным звеном в развитии указанных состояний считается патологическое воздействие на организм циркулирующих в крови микробов и их токсинов [1].

В настоящей работе рассматриваются вопросы извлечения микробов и токсинов из циркулирующей крови с помощью экстракорпоральной перфузии крови через иммуносорбент.

### МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

14 половозрелых собак были разделены на три группы. В первой группе животным (5 собак) катетеризировали бедренную вену и после предварительной гепаринизации (80 ед/кг) внутривенно вводили по 10 мл 100-миллиардной культуры золотистого стафилококка и 2 мл стафилококкового L токсина с титром 24 Лн. Затем животным катетеризовали бедренную артерию и создавали экстракорпоральный круг кровообращения между артерией и веной, куда подключали роликовый насос и колонку с иммуносорбентом. Через 10 мин после введения микробных клеток и токсина начинали экстракорпоральную перфузию крови в течение 30 мин со скоростью 0,05 л/мин. Во второй (5 собак) и третьей (4 собаки) группах животным все манипу-

ляции проводили с такой же последовательностью, за исключением внутривенного введения культуры золотистого стафилококка и  $\alpha$ -токсина (во второй группе) и проведения экстракорпоральной перфузии крови через иммуносорбент (в третьей группе).

Имуносорбент готовили заранее и помещали в перфузионные колонки, выходное отверстие которых было покрыто фильтром.

На различных этапах эксперимента у животных брали кровь и определяли титры стафилококкового микроба и  $\alpha$ -токсина методом пассивной гемагглютинации. Посевы крови делали на бульоне Хоттингера. До и после перфузии титры микробов и токсина изучали также в самом сорбенте; с такой же последовательностью ставили посевы сорбента.

Динамика изменения титра микробов и токсина, а также результаты посева микробов

| Группа обследованных животных                                  | Показатели статистической обработки | К р о в ь                          |                      |                    |  |                                |                                  |   |                                  |                                  |
|--|-------------------------------------|------------------------------------|----------------------|--------------------|--|--------------------------------|----------------------------------|---|----------------------------------|----------------------------------|
|  |                                     | перед введением микробов и токсина |                      |                    | через 10 мин после введения микробов и токсина |                                |                                  | через 25—40 мин после введения микробов и токсина |                                  |                                  |
|  |                                     | титр микробов                      | титр токсина         | посевы микробов    | титр микробов                                  | титр токсина                   | посевы микробов                  | титр микробов                                     | титр токсина                     | посевы микробов                  |
| При введении микробов и токсина с иммуносорбцией (I группа)    | $X \pm m$<br>п<br>р                 | не определялось<br>5               | не определялось<br>5 | не высевались<br>5 | 1 : 640,0<br>$\pm 109,4$<br>5                  | 1 : 1152,0<br>$\pm 218,8$<br>5 | резко положительные<br>++++<br>5 | 1 : 2,8 $\pm 0,4$<br>5                            | 1 : 3,6<br>$\pm 1,2$<br>5        | не высевались                    |
| При иммуносорбции без введения микробов и токсина (II группа)  | $X \pm m$<br>п                      | не определялось<br>5               | не определялось<br>5 | не высевались<br>5 | не определялось<br>5                           | не определялось<br>5           | не высевались<br>5               | не определялось<br>5                              | не определялось<br>5             | не высевались<br>5               |
| При введении микробов и токсина без иммуносорбции (III группа) | $X \pm m$<br>п<br>р                 | не определялось<br>4               | не определялось<br>4 | не высевались<br>4 | 1 : 640,0<br>$\pm 63,8$<br>4                   | 1 : 1152,0<br>$\pm 287,6$<br>4 | резко положительные<br>++++<br>4 | 1 : 768,0<br>$\pm 143,8$<br>4                     | 1 : 1284,0<br>8 $\pm 256,6$<br>4 | резко положительные<br>++++<br>4 |

Примечание: X — обозначает величину средней арифметической, m — величину среднеквадратической ошибки, п — количество вариантов, р — статистическую достоверность между средними арифметическими





## РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

В первой группе животных сразу после введения стафилококковых микробов и токсина развилась картина резкого расстройства дыхания, сердечно-сосудистой системы и других витальных функций организма. Впоследствии, по мере осуществления экстракорпоральной перфузии крови, эти явления постепенно устранялись и все животные выжили без существенных остаточных патологических явлений. Результаты обследования этих животных приведены в табл. 1, из которой следует, что перед введением стафилококковых микробов и токсина кровь животных была стерильной, а через 10 мин титр микроба и токсина в крови значительно нарастал и составлял  $1 : 1640,0 \pm 109,4$  и  $1 : 1152,0 \pm 218,8$  соответственно. При этом из крови высевалась резко положительная культура золотистого стафилококка. Из той же таблицы следует, что через 15—30 мин после начала перфузии (т. е. через 25—40 мин после введения микробов и токсина) в крови титр микроба и токсина значительно уменьшался, в частности на 99,6% и 99,7% соответственно и составлял  $1 : 2,8 \pm 0,4$  и  $1 : 3,6 \pm 1,2$ . Причем высеять из крови культуру стафилококковых микробов не удалось.

ту стафилококковых микробов не удалось.

Следует отметить, что перед перфузией стерильным оказался и сорбент.

После завершения перфузии в сорбенте титр микроба резко нарастал и равнялся  $1 : 153,6 \pm 27,3$ , а токсина —  $1 : 256,0 \pm 82,0$ . В данное время из сорбента высевалась резко положительная культура стафилококкового микроба.

Во второй группе животных каких-либо патологических признаков не развилось. У них на протяжении всего эксперимента кровь и сорбент оставались стерильными.

В третьей группе у всех животных сразу после введения стафилококковых микробов и токсина развилась картина резкого расстройства дыхания, сердечно-сосудистой системы и других витальных функций организма, что в течение 3—48 ч привело к гибели всех этих животных. В этой группе животных в крови титр стафилококковых микробов и токсина оставался в первоначальной концентрации в интервале 10—40 мин и даже 120 мин после их введения (таблица).

## ОБСУЖДЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ

Таким образом, в период перфузии циркулирующие в крови микробы и токсин соединяются с иммуносорбентом и остаются в колонке. При этом очистка крови от патологических компонентов начинается сразу же после начала перфузии и нарастает в течение 15—30 мин. Все вводимые микробные клетки и токсин фактически полностью извлекаются из крови, на что указывает динамика изменения титра микробов и токсина в крови и иммуносорбенте до и после перфузии крови, а также данные посева крови и иммуносорбента. На эту мысль наводит также сравнение указанных данных с показателями третьей группы, где титр микробов и токсина в крови без проведения иммуносорбции

держался сравнительно длительное время в первоначальных величинах. Результаты, полученные в первой и во второй группе, указывают на то, что перфузия крови в этом иммуносорбенте не представляет опасность для жизни и является биологически совместимым материалом.

Следует отметить, что на основе данной методики, микробы и продукты их жизнедеятельности — токсины, можно извлечь не только из крови, но, по-видимому, и из других биологических жидкостей (лимфа, спинномозговая жидкость и др.). Более того, при наличии соответствующих антител, этим же способом можно элюировать из организма любые другие вещества, представляющие интерес для исследователей и клиницистов.

## ЛИТЕРАТУРА

1. Кузин М. М., Костюченко Б. М. Вестник АМН СССР, 8, 7—14, 1983.
2. Основы реаниматологии (под редакцией Не-

говского В. А.), Ташкент, «Медицина УзССР», 1974.

ზ. ხელაძე

თბილისის სახელმწიფო სამედიცინო ინსტიტუტი  
რ ე ზ ი უ მ ე

იმუნოსორბენტზე სისხლის ექსტრაკორპორალური პერფუზიის მეშვეობით მოხერხდა ცხოველის ორგანიზმიდან მიკრობებისა და მათი ტოქსინების გამოლექვა, რომლებიც წინასწარ შეგვყავდა ცხოველს ვენაში. გამოთქმულია მოსაზრება, რომ ამ სორბენტის ანალოგებს დიდი პერსპექტივა

გააჩნიათ და მათი გამოყენება შეიძლება სისხლიდან ნებისმიერი ანტიგენური სტრუქტურის მქონე სუბსტრატის (პორმონის, ფერმენტის, იმუნოკომპონენტურ უჯრედთა, იმუნოგლობულინთა და სხვათა) გამოსალექად.

THE USE OF THE EXTRACORPORAL PERFUSION OF BLOOD THROUGH THE IMMUNOSORBENT IN ORDER TO EXTRACT MICROBES AND THEIR TOXINS FROM THE CIRCULATING BLOOD

Z. S. KHELADZE

Tbilisi State Medical Institute, USSR

S u m m a r y

The new type of the immunosorbent was characterized which during the extracorporeal perfusion extracted from the blood only the needed substrate and only in needed amount without damaging others blood components. Si-

multenously exiganigings the blood and removing carbon dioxide from it. It is suggested that the analogus of such immunosorbent could be useful in the correction of homeostasis during the terminal condition.



## К СВЕДЕНИЮ АВТОРОВ

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

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

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

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

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

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

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

6. **Иллюстрации** — четкие фотографии на глянцевой бумаге и рисованные графики на кальке или белой чертежной бумаге — следует представлять в двух экземплярах (в наклеенном 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.

673/4

Цена 85 коп.

Индекс 76204

