

784-8
1991



საქართველოს მეცნიერებათა აკადემიის მაცნე

ИЗВЕСТИЯ АКАДЕМИИ НАУК ГРУЗИИ

PROCEEDINGS OF THE ACADEMY OF SCIENCES

OF GEORGIA

ბიოლოგიის

სერია

СЕРИЯ

БИОЛОГИЧЕСКАЯ

1991 N2

თბილისი - ტომი
TBILISI - TOM
VOL.

17

საქართველოს მეცნიერებათა აკადემიის მაცემი

(Сакартвелოს მეцნიერებათა აკადემიის მაცემი)

ИЗВЕСТИЯ АКАДЕМИИ НАУК ГРУЗИИ



ბიოლოგიის სერია СЕРИЯ БИОЛОГИЧЕСКАЯ

ტომი 17, № 2
Том

ჟურნალი დაარსებულია 1975 წლის იანვარში
Журнал основан в январе 1975 года
გამოდის წელიწადში 6-ჯერ
Выходит 6 раз в год

თბილისი
ТБИЛИСИ

„მეცნიერება“
«МЕЦНИЕРЕБА»

1991

სარედაქციო კოლეგია:

მთავარი რედაქტორი ვ. ოკუჯავა

მთავარი რედაქტორის მოადგილე თ. ონიანი

სწავლული მდივანი გ. ბეკაია



ლ. გაბუნია, მ. ზაალიშვილი, გ. თუმანიშვილი, გ. კანდელაკი, გ. კვეციანი,
კ. ნადარეიშვილი, ბ. ნანეიშვილი, გ. ნახუცრიშვილი, გ. სანაძე, ბ. ყურაშვილი,
თ. ქანიშვილი, ნ. ჯავახიშვილი, ი. ელიავა
პასუხისმგებელი მდივანი ს. ლაბაძე

РЕДАКЦИОННАЯ КОЛЛЕГИЯ:

Главный редактор В. М. Окуджава

Зам. главного редактора Т. Н. Ониани

Ученый секретарь Г. Л. Бекая

Л. К. Габуния, Н. А. Джавахишвили, М. М. Заалишвили, Г. В. Канделаки,
Г. И. Квеситадзе, Б. Е. Курашвили, К. Ш. Надарейшвили, Б. Р. Нанейшвили,
Г. Ш. Нахуцришвили, Г. А. Санадзе, Г. Д. Туманишвили, Т. Г. Чანიшвили,
И. Я. Элиава

Ответственный секретарь С. Р. Лабадзе

EDITORIAL BOARD:

Editor-in-Chief V. M. Okujava

Associate Editor T. N. Oniani

Editorial Secretary G. L. Bekaiia

T. G. Chanishvili, N. A. Djavakhishvili, L. K. Gabunia, G. V. Kandelaki,
G. I. Kvesitadze, B. E. Kurashvili, K. Sh. Nadareishvili, B. R. Naneishvili,
G. Sh. Nakhutsrishvili, G. A. Sanadze, G. D. Tumanishvili,
M. M. Zaalishvili, I. I. Eliava
Executive Secretary S. R. Labadze

© Известия АН Грузии

Серия биологическая, 1991

რედაქციის მისამართი:

380060, თბილისი-60, კუტუზოვის ქ. 19,

ტელ. 37-86-78

Адрес редакции:

380060, Тбилиси-60, ул. Кутузова, 19,

тел. 37-86-78

СОДЕРЖАНИЕ — შიგნითი — CONTENTS

<p>Н. А. Ахобадзе, В. М. Окуджава, В. Г. Чанкветадзе. Некоторые особенности синдрома отмены фенобарбитала у кроликов</p>	77
<p>ბ. ახობაძე, ვ. ოკუჯავა, ვ. ჭანკვეტაძე. ფენობარბიტალის მოხსნის სინდრომის თავისებურებანი ბოცერგებში</p>	
<p>N. A. Akhobadze, V. M. Okujava, V. G. Chankvetadze. Some peculiarities of phenobarbital withdrawal syndrome in rabbits</p>	
<p>З. И. Нанобашвили, М. Р. Чикваидзе. Влияние повторных периферических раздражений на ответные реакции нейронов задней супрасильвовой извилины</p>	83
<p>ზ. ნანობაშვილი, მ. ჩიკვაიძე. განმეორებითი პერიფერული კალიზიანებების გავლენა უკანა სუპრასილვიური ხვეულის ნეირონების საპასუხო რეაქციებზე</p>	
<p>Z. I. Nanobashvili, M. R. Chikvaideze. The influence of repetitive peripheral stimulation on the evoked potentials in the posterior suprasylvian gyrus</p>	
<p>Н. М. Гиоргобiani, Л. А. Гогсадзе, М. З. Джапаридзе, Т. М. Салакая, Г. Д. Туманишвили. Исследование влияния рост-ингибирующего фактора из желудочков сердец взрослых крыс на пролиферативную активность кардиомиоцитов куриных зародышей и новорожденных крыс</p>	87
<p>ბ. გიორგობიანი, ლ. გოგსაძე, მ. ჯაფარიძე, თ. სალაყაია, გ. თუმანიშვილი. ზრდასრული ვირთაგვების გულის პარაკუტების ზრდას მინიმიზირებელი ფაქტორის გავლენა ქათმის ჩანასახებისა და ახალშობილი ვირთაგვების კარდიომიოციტების პროლიფერატულ აქტიობაზე</p>	
<p>N. M. Giorgobiani, L. A. Gogsadze, M. Z. Japaridze, I. M. Salakaya, G. D. Tumanishvili. The effect of the growth-inhibiting factor from the ventricles of adult rats on the myocyte proliferative activity of hen embryos and newborn rats</p>	
<p>Т. Ф. Курдадзе, З. Я. Киквидзе. О вариации некоторых морфологических признаков высокогорных эфемероидов Центрального Кавказа</p>	91
<p>თ. ქურდაძე, ზ. კიკვიძე. ცენტრალური კავკასიონის მაღალმთის ეფემეროიდების ზოგიერთი მორფოლოგიური ნიშნის ცვალებადობის შესახებ</p>	
<p>T. F. Kurdadze, Z. I. Kikvidze. On the variation of some morphological characteristics of the Central Caucasus high mountain ephemeral plants</p>	
<p>Э. Л. Бузукашвили, А. В. Гордецкий. Ионный гомеостаз растений. Градиенты локализации минеральных элементов и активности их ионов в различных метамерах стебля на разных этапах роста</p>	96
<p>ე. ზუზუკაშვილი, ა. გორდცეკი. მცენარეების იონური ჰომეოსტაზი. მინერალურ ელემენტთა ლოკალიზაციის გრადიენტები და მათი იონების აქტიობა ლეროს სხვადასხვა მეტამერებში მცენარეთა ზრდას ეტაპებზე</p>	
<p>E. L. Buzukashvili, A. V. Gordetsky. Ionic homeostasis of plants. Gradients of localization of mineral elements and their ionic activity in different metamers of the stem at various stages of growth</p>	
<p>К. В. Макаров, Л. Н. Гурgenidze, Н. Г. Рекк. Описание личинки эндемичного кавказского вида жуличины <i>Zarbus trinii</i> F.—W. (Coleoptera Carabidae) и диагноз подрода <i>Pelor</i> по личиночным признакам</p>	103
<p>კ. მაკაროვი, ლ. გურგენიძე, ნ. რეკი. ენდემური კავკასიური სახეობის <i>Zabrus (Pelor) trinii</i> F.—W.-ის მატლის აღწერა და ქვეგვარ <i>Pelor</i>-ის დიაგნოზი მატლების ნიშანთვისებითა მხედვით</p>	
<p>K. V. Makarov, L. N. Gurgenidze, N. G. Reck. Description of larvae <i>zabrus (Pelor) trinii</i> F.—W.—(Coleoptera Carabidae) of endemic Caucasian species and diagnosis of subgenera <i>Pelor</i> according to its larvae characters</p>	

56451

საქართველოს
აкадеმიის
ბიბლიოთეკა



И. И. Шатилова, Х. Н. Пурцеладзе, Г. О. Денсадзе. Новые данные о роде *Alangium* Lamarck из неогеновых отложений Западной Грузии
 ა. შათილოვა, ხ. ფურცელაძე, გ. დენსაძე, ნ. მახარაძე. ახალი მონაცემები გვარ *Alangium* Lamarck-ის შესახებ დასავლეთ საქართველოს ნეოგენური ნალექებიდან

I. I. Shatilova, Kh. N. Purtseladze, G. O. Deisadze, N. V. Makharadze. New data on genus *Alangium* Lamarck from neogene deposits of Western Georgia

Л. В. Серeda, Л. Л. Квачадзе, Д. А. Долидзе. Применение методов математического планирования эксперимента для оптимизации среды с целью повышения уровня биосинтеза термостабильной целлюлазы *Aspergillus Terreus*

ლ. სერედა, ლ. კვაჭაძე, ჯ. დოლიძე. საკვები არის შემადგენლობის ოპტიმიზაცია *Aspergillus Terreus*-ის თერმოსტაბილური ცელულაზების ბიოსინთეზის დონის ამაღლების მიზნით

L. V. Sereda, L. L. Kvachadze, D. A. Dolidze. Optimization of the medium content by mathematical methods of experimental planning to increase the level of thermostable cellulase biosynthesis of *Aspergillus Terreus*

Т. Ш. Яшвили, Л. З. Гоглашвили, М. Д. Шаламберидзе, Л. Л. Квачадзе. *Chaetomium thermophile* — продуцент термостабильных целлюлаз

თ. იაშვილი, ლ. გოგილაშვილი, მ. შალამბერიძე, ლ. კვაჭაძე. *Chaetomium Thermophile* — თერმოსტაბილური ცელულაზების პროდუცენტი

T. Sh. Iashvili, L. Z. Gogilashvili, M. D. Shalamberidze. *Chaetomium thermophile* — the producer of thermostable cellulases

Г. В. Гурgenidze, Н. Р. Бзишвили. Кверцетин-индуцированное подавление неспецифической Т-клеточной пролиферативной активности у больных atopической бронхиальной астмой

გ. ვურგენიძე, ნ. ბზიშვილი. არასპეციფიური t-უჯრედული აქტიობის დათრგუნვა კვერცეტინით ატოპური ბრონქული ასთმით დაავადებულ პირებში

G. V. Gurgenidze, N. R. Bzishvili. Quercetin — induced inhibition of non-specific T-cell proliferative activity in patients with atopic bronchial asthma

Г. Г. Качапуридзе, Т. Г. Махарадзе, Т. К. Качаравა, Н. Ю. Лукина, Н. Д. Двалишвили, Ц. Г. Сарিশвили. О влиянии комбинированного применения УФ облучения и гипертермии на частоту хромосомных aberrаций в лимфоцитах человека в различных фазах клеточного цикла

გ. ხაჭაპურიძე, თ. მახარაძე, თ. კაჭარავა, ნ. დვალიშვილი, ნ. ლუკინა, ც. სარიშვილი. ულტრაიისფერი სხეის და ჰიპერთერმიის ერთობლივი ზემოქმედება ქრომოსომული აბერაციების სიხშირეზე ადამიანის ლიმფოციტებში უჯრედული ციკლის სხვადასხვა ფაზაში

G. G. Khachapuridze, T. D. Makharadze, T. K. Kacharava, N. I. Lukina, N. D. Dvalishvili, Ts. G. Sarishvili. The combined influence of ultraviolet (UV) light and hyperthermia on the frequency of chromosome aberration of human lymphocytes in various phases of cellular cycles

В. Р. Акоев, Г. Г. Жадан, Р. В. Бобровский, Ц. Х. Салия, В. Л. Шныров. Калориметрическое исследование тепловой инактивации гликофорина в эритроцитарных мембранах собаки

ვ. აკოევი, გ. ჯადანი, რ. ბობროვსკი, ც. სალია, ვ. შნიროვი. ძაღლის ერითროციტარულ მემბრანებში გლიკოფორინის სითბური ინაქტივაციის კალორიმეტრული კვლევა

V. R. Akoev, G. G. Zhadan, R. V. Bobrovski, Ts. Kh. Salia, V. L. Shnyrov. Calorimetric study of thermal inactivation of glycoforin in the dog erythrocyte membranes

Л. М. Высочек, Г. Р. Геташвили, В. В. Герасимов, М. З. Цилосани. Влияние теплового фактора на конформационные переходы в ДНК

ლ. ვისოჩეკი, ვ. გერასიმოვი, გ. გეტაშვილი, მ. წილოსანი. სითბური ფაქტორის გავლენა დნმ-ის კონფორმაციულ გადასვლებზე

L. M. Vysochek, V. V. Gerasimov, G. R. Getashvili, L. Z. Tsilosani. Influence of thermal factor on conformational transitions in DNA

115

119

124

129

134

139

УДК 615.216.5.015.156

ФИЗИОЛОГИЯ ЧЕЛОВЕКА И ЖИВОТНЫХ

НЕКОТОРЫЕ ОСОБЕННОСТИ СИНДРОМА ОТМЕНЫ ФЕНОБАРБИТАЛА У КРОЛИКОВ

Н. А. Ахобадзе, В. М. Окуджава, Б. Г. Чанкветадзе

Тбилисский государственный университет им. И. Джавахишвили

Поступила в редакцию 26.06.90

Проведено исследование развития синдрома отмены (СО) у кроликов фенобарбитала (ФБ). Установлено, что после резкой отмены ФБ развивается СО в виде повышенной чувствительности к судорогам и увеличения смертности.

Синдром обусловлен скоростью спада концентрации, которая меняется в ряду I < II < III. Глубина СО хорошо коррелируется со скоростью спада концентрации и тоже меняется в ряду I < II < III.

При концентрациях 8—12 мкг/мл СО уже не наблюдается. С уменьшением $K_{уд}$ синдром увеличивается.

Фенобарбитал относится к длительнодействующим барбитуратам [1, 2]. Как правило, его длительное применение в клинике приводит к развитию физической зависимости [3, 4, 5, 6], а резкое прекращение вызывает судорожные припадки и даже эпилептический статус. Поэтому в настоящее время экспериментальное

исследование механизмов развития эффектов отмены при применении ФБ является весьма интересным [3—14].

Цель настоящей работы — выявление особенностей развития синдрома отмены ФБ у кроликов после его резкого прекращения и связь тяжести синдрома с концентрациями ФБ в плазме крови.

МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ

Эксперименты проводили на кроликах породы шиншилла весом 2,5—3,6 кг, которых оперировали под нембуталовым наркозом (40 мг/кг в/в) и в разные участки коры вживляли серебряные электроды — для регистрации ЭЭГ и определения судорожного порога. Оперированным животным в течение первых трех дней внутримышечно вводили антибиотики. В период выздоровления (10 дней) определяли судорожный порог к коразолу (1%-ный раствор вводили в/в) и электрошоку (20 Гц, 1 мс); наблюдали за изменением веса животных.

Для определения концентрации ФБ в плазме кровь брали из ушной вены. Количественное определение проводили с применением ВЭЖХ. Чув-

ствительность метода равнялась 1 мкг/мл.

Животным перорально один раз в день давали ФБ. С целью выявления «синдрома отмены» прекращали введение препаратов после различных сроков их применения (7, 14 дней) с регистрацией ЭЭГ и изменений судорожных порогов на 2, 4, 5, 7, 8, 9 сутки.

Для количественной оценки возможных проявлений СО после прекращения введения ФБ использовали методику в/в титрования коразолом. В ушную вену вводили 1%-ный раствор с постоянной скоростью. При этом оценивали три отдельных компонента действия коразола: клонические подергивания, клонические и то-



нические судороги. В момент развития этих стадий регистрировали объем введения раствора коразола с последующим пересчетом в мг на 1 кг веса тела животного. По количеству введенного коразола судили о пороге чувствительности к нему. Параллельно определяли порог к электрошоку. Силу, частоту и длительность стимуляции можно было варьировать. Обычно применяли частоту 25—30 с, продолжительность 0,5—1 мс; частота и длительность раздражения были постоянными, меняли лишь силу раздражения.

Устанавливали зависимость между степенью раздражения порога чувствительности и величинами доз препаратов, а также продолжительностью их введения. Исследовали 3 группы животных: I группа — получала ФБ в течение недели с финальной дозой 140 мг/кг (постепенно увеличивая суточную дозу от 100 мг/кг); II группа — вводился ФБ в течение 2 недель с финальной дозой 140 мг/кг; III группа — принимала ФБ в течение 2 недель, но финальная доза достигала 180 мг/кг. До начала эксперимента определяли судорожный порог к коразолу и электрошоку. Естественно, порог измеряли во время «лечения» и после его прекращения.

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

После резкой отмены ФБ у кроликов проявляется т. н. синдром отмены в виде повышенной готовности к судорогам и увеличения смертности. Гиперчувствительность достигает максимума на 4—5 день. В течение первых 72 ч животные гиперактивны, проявляется повышенный ответ на испуг, на хлопанье рук, дилатация зрачков, ринорея, анорексия, гусиная кожа и лакримация. На ЭЭГ не выявляются спонтанные судороги. Во время лечения судорожный порог как к коразолу, так и электрошоку возрастал (рис. 1а, в, с), также повышались уровни концентрации лекарств в плазме крови, а после отмены они уменьшались. После отмены в течение 5 (группа I) и 6 (II и III группы) дней подпороговые значения коразола и электрошока вызывали спайк-волновую активность, что и служит прямым доказательством их гиперчувствительности. Максимальное

Определяли вес животного во время лечения и после отмены. С целью расчета фармакокинетических параметров строили кривые зависимости концентрации ФБ от времени. Период полувыведения рассчитывали графическим способом после построения кривой в полуделогарифмических координатах. Удельный клиренс ($K_{л,уд}$), объем распределения (V), площадь под кривой (ППК) и коэффициент элиминации ($K_{эл}$) рассчитывали по формулам:

$$K_{эл} = \frac{\ln 2}{T_{1/2}} \quad (1) \quad \frac{K_{л,уд}}{f^*} = \frac{D}{ППК} \quad (2)$$

$$\frac{V}{f} = \frac{D \cdot T_{1/2}}{0,693 \cdot ППК} \quad (3)$$

$$ППК = ППК(0 - t) + \frac{C_t \cdot T_{1/2}}{0,693}, \quad (4)$$

где D — доза ФБ, C_t — концентрация ФБ в момент времени, ППК — площадь под кривой $c-t$ в интервале времени $(0-t)$.

Расчет фармакокинетических параметров осуществляли с применением типичной фармакокинетической программы, составленной на языке «Бейсик» и реализуемой на ЭВМ МС 1840.

Уменьшение порогов происходит на 4—5 день. На 4-й день они составляют соответственно к коразолу и электрошоку 75—73% (I группа), 67—50% (II группа) и 46—50% (III группа), а на 5-й день — 83—80% (I группа), 67—50% (II группа) и 41—31% (III группа) исходного уровня (рис. 1а, в, с).

Сравнивая результаты I и II групп, выявляем, что более глубокие изменения порогов произошли во II группе. Это, наверное, связано с длительностью лечения, так как остальные условия были одинаковыми. Доказательством того, что чувствительность во II группе повышена больше, чем в I, служит и тот факт, что в течение двух дней (4—5 день отмены) пороги для II группы были постоянными, а в I группе на 5-й день они уже повышались, хотя пока еще были подпороговыми. Наверное поэтому, восстановление исходного значения порогов происходит раньше для

I группы (на 8-й день), чем для II-й (на 9—10 день).

Более наглядные изменения выявляются после сравнения II и III групп

Естественно, выявление взаимосвязи между дозой ФБ и СО является практически важным, но особого внимания требует связь синдрома с

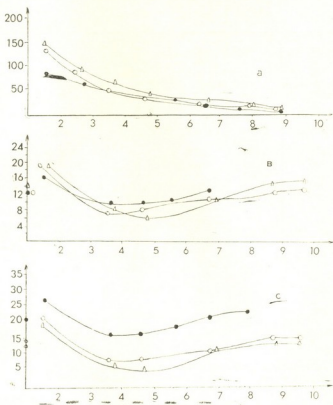


Рис. 1. Изменение концентрации ФБ после его отмены — а; изменение порогов по коразолу—(в) и электрошоку—(с) после отмены ФБ: ●—I группа; △—II группа; ▲—III группа

(рис. 1 в, с). Разницы в значениях порогов на 4—5 день указывают на большую гиперчувствительность III группы по сравнению со II группой. Интересен и тот факт, что в течение двух суток, когда для II группы пороги становятся постоянными, в III группе они уменьшаются, что еще раз доказывает о гиперчувствительности III группы, по сравнению со II; восстановление исходных уровней порогов осуществляется в обеих группах на 9—10 день.

Следует заключить, что в изменении глубины и длительности порогов важную роль играют продолжительность лечения и уровень финальной дозы, но, как выявилось, более важным оказалась финальная доза.

концентрациями лекарств в плазме крови (табл. 1). Максимум концентрации ФБ после последней дозы составляет 188 (I группа), 297 (II группа) и 494 мкг/мл (III группа). При этих значениях концентрации СО не выявляется. Для начала абстиненции концентрации по группам соответственно составляют 54 (через 67 ч после отмены) — I группа, 90 — II группа (через 67 ч) и 109 мкг/мл — III группа (через 59 ч). Видимо, СО обусловлен скоростью спада концентрации, который меняется в следующем ряду: I < II < III (табл. 1).

При концентрациях 14, 19 и 24 мкг/мл во всех трех группах СО еще на



Изменение уровней концентрации и скорости ее спада после прекращения ФБ

Группа	№ животного	Пиковая концентрация до начала СО, мкг/мл	Концентрация до начала СО, мкг/мл	Концентрация пика отмены, мкг/мл	Концентрация для времени выздоровления, мкг/мл	Спад концентрации от пика до и после начала СО, мкг/мл	Время от пика концентрации до начала СО, ч	$\frac{\Delta C}{\Delta t}$
								мкг/мл
I	1	145	58	42	7	87	58	1,5
	2	260	58	45	12,5	202	68	2,9
	3	180	65	50	7,5	115	66	1,7
	4	180	42	38	7	138	68	2,0
	5	200	58	38	7,5	142	70	2,0
	6	160	44	32	8	116	72	1,6
		188 ± 24	54 ± 8	41 ± 5	8 ± 1,2	133 ±	67 ±	1,9 ±
II	7	310	100	45	8	210	70	3,0
	8	290	92	38	20	178	65	2,7
	9	270	60	44	18	210	74	2,8
	10	300	80	50	8	220	66	3,3
	11	300	89	40	10	211	70	3,0
	12	310	120	60	5	190	58	3,8
		297 ± 11	90 ± 15	46 ± 6	12 ± 5	203 ±	67 ±	3,0 ±
III	13	485	120	52	13	365	54	6,8
	14	560	110	55	15	450	46	9,8
	15	560	115	48	12	445	56	7,9
	16	420	88	38	10	332	67	4,9
	17	470	115	80	5	355	64	5,5
	18	470	110	50	5	360	68	5,3
		494 ± 44	109 ± 8	54 ± 11	12 ± 3	325 ±	60 ±	5,4 ±

Фармакокинетические параметры ФБ у кроликов

Таблица 2

Группа	№ животного	Вес, кг	Общая финальная доза, мкг/мл	T _{макс} , ч	C _{макс} , мкг/мл	K _{эл} , ч ⁻¹	T _{1/2}	Объем распределения, мл/ч	Клу _{эл} , мл/ч/г
I	1	3,6	504000	87	65	0,02	31,9	1188	25,7
	2	3,4	476000	86	120	0,02	46,2	1839	27,6
	3	3,5	490000	84	140	0,02	45,6	2013	30,6
	4	3,5	490000	84	75	0,02	29,5	593	13,9
	5	3,4	476000	90	140	0,02	36,6	1566	32,1
	6	3,5	490000	90	100	0,02	29,1	1033	24,6
		3,5 ± 0,05	488000 ±	87 ± 2,2	107 ± 26,6	0,02 ± 0	36 ± 7	1471 ± 532	25,8 ± 6
II	7	3,2	448000	96	260	0,02	49,2	4474	63,3
	8	3,0	420000	96	220	0,01	50,3	2372	32,7
	9	2,8	312000	96	230	0,02	38,8	1678	30,0
	10	2,8	392000	96	205	0,02	45,8	3530	53,4
	11	2,9	406000	96	210	0,02	39,1	2034	36,7
	12	3,0	420000	96	35	0,02	44,8	2723	42,2
		2,9 ± 0,3	400000 ±	96 ± 0	193 ± 53	0,01 ± 0,01	44,6 ± 4	2800 ± 653	42,9 ± 3,3
III	13	3,6	648000	110	290	0,02	38,8	1867	33,3
	14	3,4	612000	115	332	0,01	48,9	2085	29,5
	15	3,5	630000	110	260	0,01	49,5	2160	32,2
	16	3,5	630000	115	320	0,02	35,7	1683	32,7
	17	3,4	612000	112	370	0,02	27,5	950	23,9
	18	3,6	648000	115	380	0,02	27,8	1274	31,7
		3,5 ± 0,06	630000 ±	112 ± 2,1	326 ± 36	0,02 ± 0,01	38,1 ± 9	1670 ± 474	30,0 ± 3,4

ბლდება (პოროგი пока еще подпороговые), а при концентрации 8—12 мкг/мл синдром не отмечается.

Сопоставление фармакокинетических данных (табл. 2) с глубиной СО (рис. 1а, в, с) показывает, что уменьшением $K_{уд}$ тяжесть синдрома увеличивается. Это объясняется насыщением возможности организма выделить сверх дозы ФБ при больших финальных дозах (III группа) или при длительном приеме препарата (II группа).

Таким образом, после резкой дозы ФБ у кроликов проявляется т. н. синдром отмены в виде повышенной готовности к судорогам и увеличения смертности. Развитие и тяжесть СО обусловлены скоростью спада концентрации, который меняется в ряду $I < II < III$. При концентрациях 8—12 мкг/мл СО уже не наблюдается. Синдром увеличивается с уменьшением удельного клиренса.

ლიტერატურა

1. Машковский М. Д. Лекарственные средства, «Медицина», М., 1987.
2. Окуджава В. М., Чанкветадзе Б. Г., Рухадзе М. Д., Ахобадзе Н. А. Фармация, 5, 58—62, 1989.
3. Belknap J. K., Waddingham S. Physiol. Psych., 394—396, 1973.
4. Belknap J. K. Psychopharm., 51, 195—198, 1977.
5. Belknap J. K., Berg J. H. Psychopharm., 59, 299—303, 1978.
6. Garlsson C. Postgrad. Med. J., 52, 116—180, 1976.
7. Goldstein D. B. Psychopharm., 32, 27—32, 1973.

8. Goldstein D. B. Fed. Proc., 34, 1953—1964, 1975.
9. Goldstein D. B. J. Pharm. Exp. Ther., 3, 11, 186—190, 1973.
10. Jaffe J. The Pharm. Basis of Therapeutics Macmillan, New York, 1975.
11. Mirin S. M. In: The Practitioners Guide to Psychoactive Drugs, Plenum Press, New York, 1977.
13. Saelens D. A. Eur. J. Pharm., 42, 39—45, 1977.
13. Sellers K. M., Zelm D. H., Degani N. C. J. Alc., 38, 2096—2105, 1977.
14. Smith J. M. J. Cell Biol., 22, 115—120, 1981.

ფენობარბიტალის მოხსნის სინდრომის თავისებურებანი ბოცვრებში

ბ. ახოზაძე, ვ. მოქუჯაშვილი, ბ. მანანტაძე

ივ. ჯავახიშვილის სახელობის თბილისის სახელმწიფო უნივერსიტეტი

რეზიუმე

ჩატარებულია ფენობარბიტალის მოხსნის სინდრომის ექსპერიმენტული გამოკვლევა ბოცვრებში. დადგენილ იქნა, რომ ფენობარბიტალის მკვეთრი შეწყვეტის შემდეგ ბოცვრებს უნვითარდებათ მოხსნის სინდრომი კრუნჩხვებისადმი მომატებული მგრძობიანობის და გაზრდილი ლეტალობის სახით.

ფენობარბიტალის მოხსნის სინდრომი განპირობებულია კონცენტრაციის დაცემის სიჩქარით, რომელიც იცვლება შემდეგნაირად $I < II < III$.

$K_{ლუ}$ -ის შემცირებით სინდრომის სიღრმე მატულობს.

SOME PECULIARITIES OF PHENOBARBITAL WITHDRAWAL SYNDROME IN RABBITS

N. A. AKHOBADZE, V. M. OKUJAVA, B. G. CHANKVETADZE

I. Javakhishvili Tbilisi State University

S u m m a r y

The study of withdrawal syndrome development in rabbits was carried out. It was established, that WS, accompanied by the strengthening of spastic readiness of animals and increase of lethality, was developed after the abrupt interruption of PhB injections.

WS syndrome is due to the rate of concentration decrease, which varies in

following order $1 < 11 < 111$. The WS intensity is in a good correlation with the rate of concentration decrease and may vary in the same order $1 < 11 < 111$.

Within the range 8—12 $\mu\text{kg/ml}$ WS is not observed.

Decrease of $\text{Clearance}_{\text{spec}}$ provides the WS intensity elevation.

УДК 612.825.263

ФИЗИОЛОГИЯ ЧЕЛОВЕКА И ЖИВОТНЫХ

**ВЛИЯНИЕ ПОВТОРНЫХ ПЕРИФЕРИЧЕСКИХ РАЗДРАЖЕНИЙ
НА ОТВЕТНЫЕ РЕАКЦИИ НЕЙРОНОВ ЗАДНЕЙ
СУПРАСИЛЬВИЕВОЙ ИЗВИЛИНЫ**

З. И. Нанобашвили, М. Р. Чикваидзе

Институт физиологии им. И. С. Берташвили АН Грузии, Тбилиси

Поступила в редакцию 22.09.89

На взрослых, обездвиженных тубокуранином кошках изучались реакции нейронов задней супрасильвиевой извилины (ЗСИ) на разные и повторные периферические раздражения. Оказалось, что нейроны, отвечающие только на вспышку света, габитуируются при длительных повторных раздражениях, тогда как реакция нейронов, отвечающих на кожное или звуковое раздражения, блокируется быстрее. Вместе с тем в полимодальных нейронах ЗСИ габитуация ответных реакций наступает быстрее на незрительные раздражения, чем на световую стимуляцию.

Особенно ценным для раскрытия интимных механизмов пластических изменений на повторные афферентные раздражения являются исследования ответных реакций одиночных нейронов центральной нервной системы [1—3, 5]. В литературе почти нет данных изучения реакции полимодальных нейронов на разные длительные афферентные раздражения. В ЗСИ, как и в других ассоциативных областях неокортекса, большинство нейронов являются полимодальными [1, 4], а изучение привыкания

в полимодальных нейронах неокортекса на разные афферентные раздражения являются важным в плане понимания механизмов, обеспечивающих интегративную деятельность неокортекса. В этом аспекте изменение реакции нейронов ЗСИ не исследованы.

В данной работе излагаются результаты изменения ответных реакций нейронов ЗСИ на повторные периферические раздражения.

МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ

Опыты проводились на 8 ненаркотизированных, кураризованных кошках весом 2,5—3 кг. Ответные реакции нейронов ЗСИ (поле 21) регистрировались стеклянными микроэлектродами, заполненными 3М раствором цитрата натрия. В качестве периферических раздражений использовали световую вспышку, звуковой щелчок или кратковременный звуковой сигнал (тон 500—600 Гц), а также раздражение кожи контра- и ипсилатеральной передней лап. Зрочки животного атропинизировались 0,1%

ным сернокислым атропином. Все раны животного ингибировались 0,5%ным раствором новокаина.

На рис. 1 (А-В) показана активность нейрона ЗСИ, который отвечает только на вспышку света и не реагирует на кожное или звуковое раздражения. Ответная реакция на свет возникает в виде группового разряда через 20—24 мс после нанесения раздражения частотой один в 2 с. Через определенное время после повторений сигнала реакция нейрона постепенно ослабевает (вместо 8—10, возникает

2—4 спайка), а затем после 90—95 применений раздражителя происходит полное их исчезновение. Особых изменений в спонтанной активности в данной клетке не отмечается. На рис. 1 (Г-Е) показаны реакции нейрона ЗСИ, отвечающего пиковыми потен-

другого нейрона ЗСИ на раздражение кожи контралатеральной передней лапы (рис. 1, Ж-И) ослабевает также быстро (8—10-кратное применение сигнала), как и реакция нейрона (рис. 1, Г-Е), отвечающего только на звуковое раздражение.

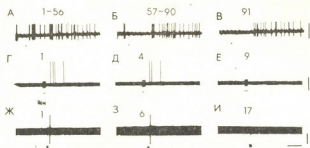


Рис. 1. Эффекты повторных афферентных раздражений в мономодальных нейронах ЗСИ: А — В — влияние световых вспышек; Г — Е — эффекты звуковой (тон 600 Гц) стимуляции; Ж — И — кожное раздражение (ЗВ, 0,3 мс). Цифры над кривыми — номер раздражителя; калибровка — 80 мс, 250 мкВ

циалами только на звуковое раздражение. Данный нейрон характеризуется низкой спонтанной активностью, который на кратковременный звуковой сигнал (тон 600 Гц) отвечает 3—4 рядами пиковых потенциалов. Раздражитель повторялся интервала-

Из этих результатов следует, что в мономодальных нейронах ЗСИ ответные реакции на повторные звуковое и кожное раздражения ослабевают быстрее, чем в нейронах, реагирующих только на вспышку света. Однако в некоторых нейронах ЗСИ ответные

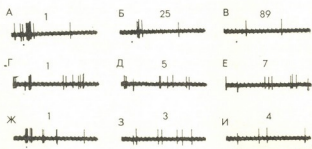


Рис. 2. Эффекты повторных афферентных раздражений в полимодальном нейроне ЗСИ: А—В—влияние вспышек света; Г—Е—влияние звуковой стимуляции (шелчок), Ж—И—влияние стимуляции кожи контралатеральной передней лапы. Остальные объяснения те же, что и на рис. 1

ми один в 2 с, и ответ быстро ослабевал: при 6—8-кратном повторении звукового раздражителя происходит полное исчезновение реакции данного нейрона (рис. 1 Е). Ответная реакция

реакции на свет ослабевают также быстро (6 нейронов), как и при других видах раздражения.

Особый интерес представляют изменения ответных реакций в полимо-

дальних нейронах ЗСИ на повторные разномодальные раздражения. Результаты одного из таких опытов показаны на рис. 2. Видно, что регистрируемый нейрон отвечает в виде групповых разрядов, состоящих из нескольких пиковых потенциалов, на все три афферентных раздражения. Следует, однако, отметить, что на вспышку света (А) регистрируемый нейрон генерирует больше спайков (6—10) в пачке, чем при применении звукового (4—5 спайков) или кожного (5—6 спайков) раздражений. Все раздражители повторялись интервалом — один в 2,5 с. При 25—28-кратном повторении зрительного сигнала происходит ослабление ответной реакции данного нейрона. Оно выражается в увеличении скрытого периода ответной реакции и уменьшении числа спайков в групповом разряде (вместо 6—10 возникают 2—4 потенциала). Начиная с 80-го применения вспышки света ответная реакция данного нейрона исчезает, или иногда появляются одиночные пиковые потенциалы. Полное блокирование ответной реакции в регистрируемом ней-

роне наступает на звуковое (Г—Е) и кожное (Ж—И) раздражения, при этом исчезновение ответных реакций происходит уже при 3—5-ом применении раздражителей. Из этого следует, что в полимодальных нейронах ЗСИ габитуация ответных реакций на кожное и звуковое раздражения наступает быстрее, чем на вспышку света. Конечно, это явление для нейронов ЗСИ не является абсолютным, то есть иногда встречаются нейроны, у которых ослабление ответных реакций на звуковое и кожное раздражения наступает при таком же многократном действии этих сигналов, как и при световой стимуляции. Имеется только три случая, когда ослабление ответной реакции нейронов на вспышку света наступает быстрее, чем при применении других раздражителей.

Из вышесказанного следует, что как в моно-, так и полимодальных нейронах ЗСИ габитуация ответных реакций наступает быстрее на незрительные раздражения, чем на вспышку света.

ЛИТЕРАТУРА

1. Артеменко Д. П., Мамонец Г. М. *Нейрофизиология*, 4, 375—383, 1972.
2. Виноградова О. С., Линдслей Д. Р. *Журн. высш. нервн. деят.*, 13, 207—217, 1963.
3. Виноградова О. С., Стафехина В. С. *Журн. высш. нервн. деят.*, 24, 337—346, 1974.
4. Dubner R. *Rutledge L. Exp. Neurol.*, 12, 349—369, 1965.
5. Horn G. Hill R. M. *Exp. Neurol.*, 14, 199—223, 1966.

განმეორებითი პერიფერიული გალიზიანებაზის გავლენა უკანა სუბრასიკლური ხვეულის ნეირონების საპასუხო რეაქციებზე

წ. ნანობაშვილი, მ. ჩიკავაძე

საქართველოს მეცნიერებათა აკადემიის ი. ბერიტაშვილის სახელობის ფიზიოლოგიის ინსტიტუტი, თბილისი

რ ე ზ ი უ მ ე

მიორელაქსანტებით დადამბლავებულ კატეზზე შეისწავლებოდა უკანა სუბრასიკლური ხვეულის (უსხ) მონო- და პოლიმოდალური ნეირონების საპასუხო რეაქციების ცვლილებები. განმეორებითი პერიფერიული გალიზიანებისას გამოირკვა,

რომ უსხ-ს როგორც მონო-, ისე პოლიმოდალური ნეირონების საპასუხო რეაქციები კანისა და ბგერით გალიზიანებაზე უფრო ადვილად კნინდებიან (განიცდიან მიჩვევას), ვიდრე სინათლის სტიმულაციით გამოწვეული.

THE INFLUENCE OF REPETITIVE PERIPHERAL STIMULATION
ON THE EVOKED POTENTIALS IN THE POSTERIOR
SUPRASYLVIAN GYRUS



Z. I. NANOBASHVILI, M. R. CHIKVAIDZE

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

S u m m a r y

In adult cats immobilized with myorelaxants the influence of mono- and polymodal neuronal reactions in the posterior suprasylvian gyrus was studied during long-lasting repetitive peripheral stimulation.

Both mono - and polymodal neuronal responses were shown to be more readily habituated at skin and sound stimulations than at photic one.

УДК 591.484

ЦИТОЛОГИЯ

ИССЛЕДОВАНИЕ ВЛИЯНИЯ РОСТ-ИНГИБИРУЮЩЕГО ФАКТОРА ИЗ ЖЕЛУДОЧКОВ СЕРДЕЦ ВЗРОСЛЫХ КРЫС НА ПРОЛИФЕРАТИВНУЮ АКТИВНОСТЬ КАРДИОМИОЦИТОВ КУРИНЫХ ЗАРОДЫШЕЙ И НОВОРОЖДЕННЫХ КРЫС

Н. М. Гиоргобиани, Л. А. Гогсадзе, М. З. Джапаридзе, Т. М. Салакая,
Г. Д. Туманишвили

Тбилисский государственный университет

Поступила в редакцию 20.03.90

Показано, что спиртовая (55—81°) фракция, выделенная из желудочков сердец взрослых крыс, значительно понижает как колхициновый митотический индекс, так и ДНК-синтетическую активность кардиомиоцитов девятидневных куриных зародышей и новорожденных крыс.

Изучение продолжительности действия рост-ингибирующих факторов и влияния различных их концентраций на отдельных этапах клеточного цикла (S-фаза и собственно митоз) выявило тканеспецифичность эффекта и отсутствие видовой специфичности.

В настоящее время рост-тормозящие вещества (кейлоны) обнаружены почти во всех типах тканей [2, 10]. Однако рост-ингибирующие факторы сердца до последнего времени были почти не изучены.

Поводом к исследованию рост-регулирующих факторов сердца послужили работы Румянцева и сотр. [6], обнаруживших митозы в миоцитах предсердий млекопитающих при повреждении желудочков. Возникло предположение, согласно которому различия в пролиферативной способности миоцитов предсердий и желудочков обусловлены неравномерным распределением в них рост-ингибирующих веществ.

Работы по исследованию кейлонов сердца были начаты в нашей лаборатории в 1977 году Лежава и сотрудниками [3]. Солевой (0,14 М NaCl) экстракт желудочков взрослых кур при введении его в 11-дневные кури-

ные зародыши вызывал понижение митотического индекса в сердцах зародышей, тогда как экстракт предсердий лишь незначительно повышал его. Продолжением исследований рост-ингибирующих факторов сердца явились работы Туманишвили и сотр. [7]. Производилась спиртовая экстракция водного гомогената желудочков сердец взрослых животных. Было исследовано действие 50°, 70° и 81°-ных спиртовых экстрактов на пролиферативную способность кардиомиоцитов 11-дневных зародышей кур. Было показано, что все три спиртовые фракции желудочкового экстракта в большей или меньшей степени воздействовали на митотическую активность исследуемых клеток.

В настоящей работе изложены результаты более детального исследования особенностей рост-ингибирующих факторов, обнаруженных нами в желудочках сердец млекопитающих.

МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ

У белых беспородных половозрелых крыс вырезали сердца, удаляли предсердия, из желудочков готовили вод-

ный гомогенат и проводили его поэтапное насыщение этиловым спиртом. В опытах использовали 55°—81°-

ную спиртовую фракцию, обогащенную, по мнению Буллоу [9], кейлонами. Фракцию сушили под вакуумом в присутствии обезвоженного силикагеля (в сухом виде фракция представляет собой серо-белый порошок).

Исследование влияния рост-ингибирующих факторов (РИФ) на деление клеток. Сердца 9-дневных куриных зародышей инкубировали в среде 199 при 37°C в течение 5 ч. В опытные инкубационные пробирки вносили РИФ в количестве 200 мкг на 5 мл среды и за 3 ч до взятия материала вносили колхицин (1 мкг на 1 мл среды).

В опытах использовали также сердца новорожденных (2, 3 и 4-дневных) крыс. Контрольным группам внутримышечно вводили по 0,1 мл трис-НСI (рН 8) буфера, а опытным животным по 200 мкг РИФ (в 0,1 мл трис-НСI, рН 8). За 3 ч до взятия материала вводили колхицин (по 1 мкг на 1 г веса животного).

В описанных случаях материал брали через 5 ч после инъекции РИФ. Фиксация материала производилась в жидкости Карнуа. После обычной гистологической обработки готовили препараты со срезами толщиной 5 мк, окрашивали гематоксилин-эозином и для каждого объекта просчитывали по 3000—5000 клеток. Об активности РИФ судили по митотическому индексу в пересчете на тысячу клеток.

Исследование действия РИФ на ДНК-синтетическую активность кардиомиоцитов. Опыты проводили на 3-дневных крысах. Животных разбили на пять групп:

1. Контроль К₅ — вводили по 0,1 мл трис-НСI, рН 8.

2. Опыт Оп₅ — вводили по 200 мкг РИФ в 0,1 мл трис-НСI (материал брали через 5 ч после инъекций РИФ).

3. Контроль К₁₀ — вводили по 0,2 мл трис-НСI.

4. Опыт 2Оп₁₀ — двукратно, вначале опыта и за 5 ч до забоя, вводили по 200 мкг РИФ в 0,1 мл трис-НСI.

5. Опыт Оп₁₀ — вводили по 400 мкг РИФ в 0,2 мл трис-НСI (материал брали через 10 ч после первой инъекции РИФ).

За час до взятия материала всем животным вводили Н³-тимидин из расчета 1 мкКиори на 1 г веса животного. В каждой группе использовали по 12 крыс. Через указанные сроки животных забивали декапитацией, извлекали сердца и размельченную ткань помещали в пробирку. Далее, по методу Шмидта и Тангаузера [12], получали нуклеотиды; отмывку липидов проводили по методу Садовского и Стерна [11]. Раствор нуклеотидов переносили в сцинтилляционные флаконы с 10 мл сцинтилляционной жидкости Брэя [8]. Интенсивность включения меченых предшественников определяли на счетчике СВС-2. Параллельно мерили количество ДНК на спектрофотометре СФ-26 при длинах волн 268 и 282, 5 нм и пересчитывали количество импульсов в минуту на соответствующее количество ДНК.

Статистический анализ полученных данных проводили по критерию Стьюдента.

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

Как видно из результатов опытов (табл. 1), рост-тормозящий фактор, выделенный из желудочков сердец взрослых крыс, обладает способностью ингибировать деление клеток. В случае куриных эмбрионов эффект торможения составляет 60%, в отношении же 2, 3 и 4-дневных крыс 50, 60 и 46% соответственно.

Как видно из таблицы, РИФ, выделенный из желудочков сердец крыс, действует на размножение клеток сердец куриных эмбрионов довольно активно. Следовательно, РИФ, подобно ряду других ростингибирующих фак-

Таблица 1

Действие РИФ на кардиомиоциты куриных зародышей и новорожденных крыс

Объект	Митотический индекс	
	контроль	опыт
9-дневные куриные зародыши	5,9±0,4	2,4±0,4
2-дневные крысы	10,1±0,8	4,9±0,9
3-дневные крысы	15,9±0,9	6,5±0,9
4-дневные крысы	5,3±0,6	2,9±0,8



торов, не проявляет видовой специфичности.

В экспериментах с новорожденными крысами мы определяли также и сроки сохранности препарата. В случае 2-дневных крыс использовали свежеприготовленный препарат, 4-дневных — препарат годичной давности. Из результатов следует, что в течение, по крайней мере, года тормозящие свойства РИФ сохраняются полностью.

Анализ результатов по включению H^3 -тимидина в клетки сердечной мышцы новорожденных (3-дневных) крыс показал, что в материале, взятом через 5 ч после инъекции РИФ (200 мкг) достоверного понижения интенсивности включения H^3 -тимидина по сравнению с контролем не происходит (табл. 2). Недостоверны также различия и между группами K_{10} и $2 Op_{10}$. В данном случае РИФ (по 200 мкг) вводили двукратно, в начале опыта и за 5 ч до забоя, а материал брали через 10 ч после инъекции. На основе полученных данных можно предположить, что в течение первых пяти часов после инъекции не удается зарегистрировать достаточного количества клеток, входящих в стадию, где на границе фаз G_1-S эти клетки «подлавливаются» РИФ-ом. Кроме того, количество введенного животным РИФ (200 мкг) может быть недостаточным для заметного торможения клеток, входящих в фазу. Указанная доза РИФ неэффективна даже при двукратном, в течение 10 ч, введении. Как следует из приведенных данных, достоверное понижение индекса меченых кардиомиоцитов подопытных животных по сравнению с контролем

($K_{10}-Op_{10}$) обеспечивается лишь однократным введением 400 мкг РИФ при взятии материала через 10 ч после инъекции.

В экспериментах с определением митотического индекса РИФ в количестве 200 мкг оказался достаточным

Таблица 2

Действие различных доз РИФ на кардиомиоциты новорожденных крыс

Время действия и доза РИФ	Митотический индекс		P
	контроль	опыт	
5 ч, 200 мкг	12,0 ± 3,7	9,8 ± 1,8	< 0,05
10 ч, 2 × 200 мкг	19,6 ± 4,8	10,4 ± 3,7	< 0,05
10 ч, 400 мкг	19,6 ± 2,8	7,7 ± 2,2	< 0,05

для подавления пролиферации кардиомиоцитов, тогда как для ингибирования синтеза ДНК понадобилась доза в 400 мкг. Таким образом, можно предположить, что используемая нами в опытах спиртовая фракция содержит (в различных, по-видимому, концентрациях) два вещества, одно из которых действует на клетки, входящие в митоз, а другое — на клетки, находящиеся на пороге синтеза ДНК. Настоящее предположение полностью согласуется с литературными данными [4, 5], согласно которым в целом ряде тканей кейлоны представлены двумя типами веществ — C_1 и C_2 , воздействующими на клетки в соответствующие фазы клеточного цикла.

ЛИТЕРАТУРА

1. Гиоргобани Н. М., Салакая Т. М., Дзидзигури Д. В., Туманишвили Г. Д. Мат. IV Респ. научно-методической конференции биологов высших учебных заведений, «Мещиереба», Тбилиси, 1985, 176—178.
 2. Кетлинский С. А. Арх. анат. гист. эмбриол., 78, I, 29—42, 1980.
 3. Лежава Р. А., Туманишвили Г. Д., Гогсадзе Л. А. Изв. АН ГССР, сер. биол., 3, 5, 435—443, 1977.
 4. Неустров Г. В. Успехи совр. биол., 99, 3, 350—357, 1985.
 5. Окулов В. Б., Кетлинский С. А. Цитология, 17, II, 1294—1299, 1975.
 6. Румянцев П. П. Кардиомиоциты в процессах репродукции, дифференцировки и регенерации, «Наука», Л., 1982.
 7. Туманишвили Г. Д., Салакая Т. М., Гиоргобани Н. М., Дзидзигури Д. В. Мат. III Закавказ. конф. морфологов, Ереван, 1982, 154.
 8. Шеррер К. Методы вирусологии и молекулярной биологии, «Мир», М., 1972, 190—195.
2. Серия биологическая, т. 17, № 2



9. Bullough W. S., Hewett C. L., Laurence E. B. *Exp. Cell Res.*, **36**, 192—200, 1964.
 10. Houck Y. C. *Chalones*, Amsterdam—Oxford—N. Y., 1976.
 11. Sadovsky P. D., Stern Y. N. *J. Cell Biol.*, **37**, 147—164, 1968.
 12. Smidt G., Thangauser *Exp. Cell Res.*, **161**, 83—84, 1945.

ზრდასრული ვირთაბავშვის გულის პარკუჭების ზრდის
 მაინვიბირემბელი ფაქტორის ბავშვთა ქათმის ჩანასახებისა
 და ახალშობილი ვირთაბავშვის კარდიომიოციტების
 პროლიფერატულ აქტივობაზე

ნ. გიორგობიანი, ლ. გოგსაძე, მ. ჯაპარიძე, თ. სალაქაია, გ. თუშანიშვილი

ივ. ჯავახიშვილის სახელობის თბილისის სახელმწიფო უნივერსიტეტი

რ ე ზ ი მ ე

გამოკვლევებით ნაჩვენებია, რომ ზრდასრული ვირთაბავშვის გულის პარკუჭებიდან გამოყოფილი 55°—81° სპირტული ფრაქცია მნიშვნელოვნად აქვეითებს 9-დღიანი ქათმის ჩანასახებისა და ახალშობილი ვირთაბავშვის კარდიომიოციტების როგორც კოლხინინურ მიტოზურ ინდექსს, ისე დნმ-სინთეზურ აქტიობას.

შესწავლილ იქნა აგრეთვე ზრდის მაინვიბირემბელი ფაქტორის მოქმედების ხანგრძლიობა და მისი სხვადასხვა კონცენტრაციების გავლენა უკრედული ციკლის ცალკეულ ეტაპებზე (S-ფაზაზე და საკუთრივ მიტოზზე). როგორც გაირკვა, ეფექტი ქსოვილ-სპეციფიურია, მაგრამ მოკლებულია სახეობრივ სპეციფიურობას.

THE EFFECT OF THE GROWTH-INHIBITING FACTOR FROM THE VENTRICLES OF ADULT RATS ON THE MYOCYTE PROLIFERATIVE ACTIVITY OF HEN EMBRYOS AND NEWBORN RATS

N. M. GIORGOBIANI, L. A. GOKSADZE, M. Z. JAPARIDZE, T. M. SALAKAIA, G. D. TUMANISHVILI

I. Javakhishvili Tbilisi State University

S u m m a r y

The 81° ethanol fraction from the ventricles of adult rats was shown to decrease significantly both colchicin mitotic index and DNA synthetic activity of 9-day old hen embryonic and newborn (2—4 day) rats' hearts.

of the growth-inhibiting factors at different stages of the cell cycle (S-phase and mitosis itself) and the time of their action were also studied. The effect was shown to be tissue—but not species-specific.

The effect of different concentrations

УДК 581.522.4

БОТАНИКА

О ВАРИАЦИИ НЕКОТОРЫХ МОРФОЛОГИЧЕСКИХ ПРИЗНАКОВ ВЫСОКОГОРНЫХ ЭФЕМЕРОИДОВ ЦЕНТРАЛЬНОГО КАВКАЗА

Т. Ф. Курдадзе, З. Я. Киквидзе

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

Поступила в редакцию 30.05.89

19.7.95

Вдоль высотного градиента (1900—2700 м над уровнем моря) производились морфологические измерения некоторых признаков весенних эфемероидов Центрального Кавказа: *Primula amoena* М. В., *Primula algida* Adam, *Fritillaria lutea* Mill., *Gentiana angulosa* М. В. Среднее количество листьев исследованных растений вдоль высотного градиента постоянно. Замечена общая тенденция уменьшения средней площади одного листа или средней листовой поверхности одного растения, кроме вида *G. angulosa*, у которого наблюдается обратная тенденция. Количество цветков у многоцветковых видов рода *Primula* также значительно уменьшается с возрастанием высоты над уровнем моря.

Высокогорные эфемероиды Центрального Кавказа распространены в довольно широком диапазоне высотного градиента, включающего субальпийский, альпийский и даже субнивальный поясы. Очевидно, что ужесточение (экстремальных) условий с возрастанием высоты над уровнем моря может влиять на некоторые морфологические признаки растений. В частности, у верхней границы распространения эфемероидов усиленное действие подавляющих рост растений стрессовых факторов должно выражаться в количественных изменениях морфологических признаков. Мы исследовали изменения площади листьев, количества листьев и цветков, высоты растений у некоторых эфемероидов Центрального Кавказа вдоль высотного градиента. Исследования проводились в Казбегском районе (42°48' с. ш. и 44°39' в. д., относительная влажность 70—75%, годовая сумма осадков 700—900 мм) на четырех представителях весенних эфемероидов: *Primula amoena* М. В. (нетипичный эфемероид), *Primula algida* Adam, *Fritillaria lutea* Mill., *Gentiana angulosa*

М. В. Растения собирались по двум мезосклонам противоположной экспозиции: северо-западной на высотах 2100, 2450, 2600, 2700 м над уровнем моря и юго-восточной на высотах 1900, 2050, 2300 и 2450 м над уровнем моря. При морфометрических измерениях растения находились в фазе цветения. Повторность измерений от 3 до 24, статистическая обработка данных производилась по общеизвестным методикам [1].

Измерения показали, что среднее количество листьев одного растения не зависит от высоты над уровнем моря, но в различной степени может варьировать у исследуемых растений (табл.1). Постоянство среднего количества листьев одного растения у исследуемых видов вдоль высотного градиента устанавливает простую пропорциональную зависимость между средней площадью одного листа и средней листовой поверхностью одного растения: последняя величина может быть легко вычислена произведением двух предыдущих. Это позволяет ограничиться исследованием средней площади одного листа. На рисун-

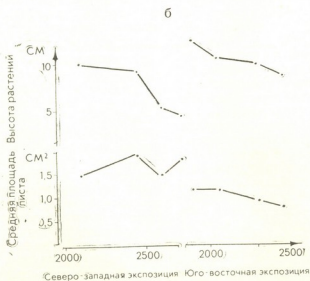
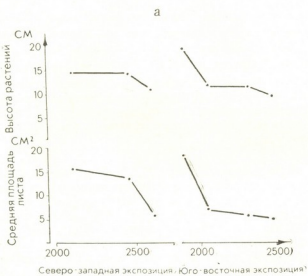
Таблица 1

Количество листьев одного растения
в эфемероидах

Растение	Среднее количество листьев	Коэффициент вариации
<i>Primula amoena</i>	6	24,12
<i>Primula algida</i>	10	14,66
<i>Fritillaria lutea</i>	9	14,11
<i>Gentiana angulosa</i>	5	9,14

ках показаны изменения именно этой величины вдоль высотного градиента, наряду со средними величинами высоты растений (рис. 1 а, б, в, г). Как

можно видеть из рисунков, заметна общая тенденция уменьшения высоты растений вдоль высотного градиента. Уменьшается также и средняя площадь одного листа (соответственно и листовая поверхность одного растения). Исключение составляет *G. angulosa*. Хотя высота этого растения и уменьшается вдоль высотного градиента, но средняя площадь одного листа или листовая поверхность одного растения, в отличие от других видов, не уменьшается, а увеличивается. Это, возможно, отражает своеобразие адапционных механизмов ассимиляции углерода этим растением.



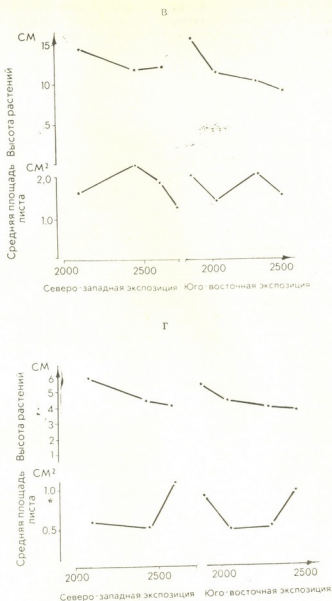


Рис. 1. Изменение средней высоты растения и средней площади одного листа вдоль высотного градиента у *Primula amoera* (а), *Primula algida* (б), *Fritillaria lutea* (в), *Gentiana angulosa* (г)

Рис. 2 показывает изменения среднего количества цветков одного растения вдоль высотного градиента у многоцветковых видов *P. amoera* и *P. algida*. Как видно, среднее количество цветков в значительной степени уменьшается на больших высотах над уровнем моря.

Привлекает внимание неравномерные количественные изменения морфологических признаков весенних эфе-

мероидов. Эти изменения в большей части скачкообразны, и не только у границ высотного распространения исследуемых растений. Скачкообразные изменения наблюдаются выше 2500 м над уровнем моря на склоне северо-западной экспозиции и выше 2000 м на склоне юго-западной экспозиции. Возможно, это проявление тех факторов, которые определяют верхний предел распространения ле-



სა. Внешние экологические факторы, такие как средняя суточная температура, увлажнение и т. д., равномерно изменяются вдоль высотного гради-

образных изменениях некоторых морфологических признаков. С другой стороны, такие количественные изменения, как уменьшение площади ли-

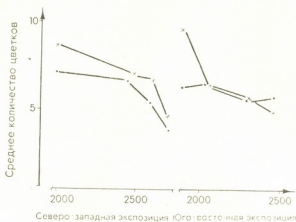


Рис. 2. Изменение среднего количества цветков одного растения вдоль высотного градиента у *P. amoena* (•—•) и у *P. algida* (x—x)

сита. Однако для физиологических процессов в растениях существуют пороговые значения этих факторов, ниже или выше которых возникает необходимость включения различных адаптационных механизмов, что, очевидно, может проявляться в скачко-

ста, высоты растений или количества цветков, могут показывать не приспособленность, а общее, более подавленное состояние растений под возрастающим влиянием экстремальных условий обитания на больших высотах над уровнем моря.

ЛИТЕРАТУРА

1. Лакин Г. Ф. Биометрия, М., «Высшая школа», 1980.

ცენტრალური კავკასიონის მაღალმთის ეფემეროიდების ზოგადი მორფოლოგიური ნიშნის ცვალებადობის შესახებ

თ. შურაძე, ზ. კიკვიძე

საქართველოს მეცნიერებათა აკადემიის ნ. კეცხოველის სახელობის ბოტანიკის ინსტიტუტი, თბილისი

რეზიუმე

ცენტრალური კავკასიონის ეფემეროიდებში (*Primula amoena* M. B., *Primula algida* Adam, *Fritillaria lutea* Mill., *Gentiana angulosa* M. B.) ისაზღვრებოდა ზოგიერთი მორფოლოგიური ნიშნის ცვალებადობა

ზღვის დონიდან სიმაღლის გრადიენტის (1900—2700 მ.) გასწვრივ. გამოკვლეულ მცენარეებში ერთ ძირზე ფოთლების საშუალო რაოდენობა გრადიენტის გასწვრივ მუდმივი აღმოჩნდა, მაგრამ ფოთ-



ლის საშუალო ფართობი და ერთ ძირზე ფოთლების საერთო ზედაპირის სიდიდე სიმაღლის ზრდასთან ერთად მცირდება და საკმაოდ მნიშვნელოვნად, გარდა ერთი სახეობისა (*G. angulosa*), რომელსაც საწინააღმდეგო ტენდენ-

ცია აღმოაჩნდა. ასევე მნიშვნელოვნად მცირდება ზღვის დონიდან სიმაღლის ზრდასთან ერთად ყვავილთა რაოდენობა ერთ ძირზე მრავალყვავილიან სახეობებში (გვარი *Primula*).

ON THE VARIATION OF SOME MORPHOLOGICAL CHARACTERISTICS OF THE CENTRAL CAUCASUS HIGH MOUNTAIN EPHEMEROUS PLANTS

T. F. KURDADZE, Z. J. KIKVIDZE

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

S u m m a r y

In high mountain ephemeroïds of the Central Caucasus (*Primula amoena* M. B., *Primula algida* Adam., *Fritillaria lutea* Mill., *Gentiana angulosa* M. B.) some morphological characteristics have been measured through the altitudinal gradient (1900—2700 m). The average number of leaves per plant in all species is cons-

tant through the altitudinal gradient, but average surface of one leaf or leaf surface per plant significantly decreases, except in *G. angulosa* which shows an opposite tendency. The decrease of the number of flowers in multifloral species (genus *Primula*) is also significant.

УДК 581.1 : 581.131 : 581.142

ФИЗИОЛОГИЯ РАСТЕНИЙ

ИОННЫЙ ГОМЕОСТАЗ РАСТЕНИЙ. ГРАДИЕНТЫ ЛОКАЛИЗАЦИИ МИНЕРАЛЬНЫХ ЭЛЕМЕНТОВ И АКТИВНОСТИ ИХ ИОНОВ В РАЗЛИЧНЫХ МЕТАМЕРАХ СТЕБЛЯ НА РАЗНЫХ ЭТАПАХ РОСТА

Э. Л. Бузукашвили, А. В. Гордецкий

*Тбилисский государственный университет им. И. Джавахишвили
Институт ботаники АН УССР, Киев*

Поступила в редакцию 26.10.89

Исследованы градиенты распределения общего содержания и активности ионов основных элементов минерального питания (азота, фосфора, калия, кальция, магния, натрия, хлора) в органах и тканях растений кукурузы и яблони в зависимости от возраста.

Изучены корреляции между общим содержанием элементов и активностью их ионов, что дает основание для уточнения некоторых традиционных представлений о градиентах распределения элементов минерального питания в растениях, основанных, главным образом, на анализе их общего содержания.

Полученные данные свидетельствуют о наличии гомеостатических параметров ионного состава растительных организмов.

В свете развития исследований, представленных нами в предыдущих работах [1, 2], необходимо отметить, что при изучении градиентов распределения минеральных элементов в растениях перед нами встает задача установления закономерностей этого распределения в различных органах, расположенных по оси побега, а также в плоскостях, перпендикулярных этой оси, т. е. распределение веществ по ярусам стебля и листьев и в различных тканях стебля. Современная физиологическая и агрохимическая литература [4, 5] располагает огромным багажом данных о содержании различных элементов минерального питания в целом растении или в отдельных его органах. Тем не менее недостаточно изучена динамичность минерального состава отдельных органов растений в онтогенезе и подвижность соединений элементов питания растений.

С применением современной техники ионоселективных электродов в со-

четании с методом атомно-адсорбционной спектроскопии [3] нам удалось в полевых и вегетационных опытах с кукурузой сорта «Днепровская-247» и яблонями сорта «Макинтош» и «Слава победителям» изучить динамичность их минерального состава.

Результаты исследований, представленные в табл. 1, убедительно свидетельствуют о высокой степени варьирования в различных метамерах стебля кукурузы общего содержания как органических (азот, фосфор), так и неорганических элементов (калий, кальций, магний). Меньшая степень варьирования, за исключением фосфора, отмечена лишь в активности ионов исследуемых элементов. Это указывает на то, что гомеостатичность минерального состава внутренней среды тканей рассматриваемых органов формируется, по-видимому, главным образом за счет их активных ионов.



Вопреки сложившимся представлениям, берущим начало от работ Коуэлла [6], о четко выраженном акропетальном градиенте распределения кальция и низкой степени его реутилизации в листьях кочана капусты, мы не получили ярких подтверждений акропетального градиента концентрации общего содержания этого элемента в кукурузе. Более того, градиент активности ионов кальция, по нашим данным, носит стабильный, четко выраженный базипетальный характер. По-видимому, Коуэллу такие яркие данные акропетального распределения кальция удалось получить благодаря особенностям капусты, характеризующейся большим количеством листьев, укороченными междоузлиями стебля и быстрым (один за другим) появлением листьев.

Четкий акропетальный характер распределения кальция и магния (табл. 2) подтвердился у нас лишь для тканей вдоль и поперек оси ствола и многолетних побегов яблони ($C_v=4-6\%$, $C_s=0,8\%$). И в этом случае градиент активности ионов кальция ($C_v=3\%$, $C_s=0,6\%$) носит совершенно противоположный — базипетальный характер, что еще раз заставляет усомниться в правомерности представлений о низкой реутилизации кальция в тканях растений. В этом плане интересно проследить за формированием градиента распределения общего содержания и активности ионов элементов, которые принято рассматривать не в числе неподдающихся реутилизации, а главным образом, в числе активных метаболитов. На наш взгляд, наибольшего внимания среди этих элементов заслуживает азот, представленный среди неорганических его форм катионами (NH_4^+) и анионами (NO_3^-), и фосфор как органические структурообразователи и неорганические, в большинстве случаев не связанные в органоминеральных комплексах, ионы калия, натрия и хлора.

Исследования градиентов общего содержания и активности ионов этих элементов в тканях отдельных метамеров вдоль оси стебля кукурузы и в побегах яблони (табл. 1, 2) разного возраста показали, что не для всех этих элементов градиенты общего содержания и активности ионов совпадают. Во всех исследованных нами

случаях для различных метамеров вдоль оси стебля кукурузы и яблони, а также в тканях плоскостей, перпендикулярных оси побегов разных лет яблони, характерен базипетальный градиент распределения общего содержания азота ($C_v=5-8\%$, $C_s=3-5\%$). Что касается активностей ионов азота, то необходимо отметить акропетальный характер распределения ионов NO_3^- ($C_v=7\%$, $C_s=4\%$) и базипетальный характер распределения ионов NH_4^+ ($C_v=5\%$, $C_s=3\%$) в разновозрастных метамерах вдоль оси стебля кукурузы и в различающихся возрастом побегов яблони. В плоскостях, перпендикулярных оси побегов яблони, установлено, что градиент активности ионов NO_3^- и NH_4^+ отличается в тканях побегов различных возрастов.

В многолетних побегах сохраняется базипетальный градиент NO_3^- с увеличением его содержания в ряду сердцевина—ксилема—флоэма, в однолетних побегах активность ионов NO_3^- не обнаружена в древесине, но зато наблюдается значительно большее, чем в ксилеме, содержание ионов NH_4^+ в флоэме.

Исследования градиентов общего содержания фосфора и его ионов показали, что удельный вес неорганических ионов в зависимости от возрастного состояния, характеристичности ткани и вида растений составляет 30—70% от общего содержания фосфора в растениях. Такой уровень содержания ионов органического элемента представляет большой интерес, ибо свидетельствует о больших скоростях обновления метаболических фондов или о наличии ионных депо резервирования фосфора. Особенно интересно то обстоятельство, что, несмотря на отсутствие четко выраженного градиента общего содержания фосфора, градиенты распределения активности его ионов устойчиво сохраняют базипетальный характер во всех исследуемых нами случаях ($C_v=3\%$, $C_s=3,2\%$).

Исследования градиентов распределения общего содержания и активности ионов элементов, поддающихся по классификации Сабинина [5] быстрой реутилизации в процессах обмена веществ (K, Na, Cl), позволяющая



сделать вывод, что для этих элементов, как и для органических (азот, фосфор), сложившиеся представления о базипетальном градиенте распределения не подтверждаются, когда они сопоставляются с ростом конкретных метамеров растущего органа и, особенно, при оценке градиентов активности ионов.

Для калия, вопреки сложившимся представлениям о его базипетальном распределении, как и для натрия (табл. 1,2), характерен смешанный тип градиента в метамерах стебля кукурузы, различающихся возрастными изменениями, т. е. высокий уровень их общего содержания наблюдается в метамерах среднего возраста, уменьшаясь к основанию побега к более старым метамерам. В первом нашем сообщении [1] это объяснялось высоким уровнем калийного питания во всех многолетних опытах с кукурузой.

Для многолетних растений особенности градиента распределения общего содержания, а также активности ионов калия и натрия, заключаются в том, что при рассматривании вдоль оси ствола и в различающихся по возрасту ветвях яблони (табл. 2) можно отметить высокий уровень общего содержания этих элементов в сердцевине и древесине нижних частей ствола, т. е. акропетальный характер градиента, который постепенно, с уменьшением возраста, снижается и приобретает базипетальный характер в молодых (1—2-летних) побегах. Градиент активности ионов K^+ и Na^+ в многолетних растениях выражен значительно сильнее, чем в однолетних, и во всех исследуемых случаях носит базипетальный характер.

Базипетальный характер распределения общего содержания калия и натрия характерен также для тканей многолетних растений в плоскостях, перпендикулярных продольной оси ствола, и для более молодых побегов яблони, закономерно увеличиваясь от сердцевины и древесины к коре ствола яблони (табл. 2). Что касается градиента распределения активности ионов этих элементов, то во всех исследованных случаях наблюдается базипетальный градиент активности ионов в яблоне. Особенно резкий скачок повышения уровня активности ионов наблюдается в коре молодых

побегов яблони, что, по-видимому, связано с содержанием в тканях многолетних и особенно однолетних активно растущих побегов достаточно высокого уровня клеток образовательной ткани камбия, которые трудно методически отделить в молодых, да и в старых побегах яблони для отдельного эксперимента. Такое объяснение достаточно схематично, ибо можно также предположить увеличение активности ионов этих элементов в коре с активным нисходящим транспортом их по флоэме, но это уже самостоятельный вопрос, требующий специального изучения.

Что касается активности ионов Cl^- , то во всех исследуемых случаях — и вдоль оси стебля кукурузы, и в разновозрастных побегах яблони (табл. 1,2), и в тканях плоскостей, перпендикулярных оси стебля яблони, — нами обнаружен акропетальный характер распределения активности.

Аналогичные закономерности распределения всех вышеприведенных элементов и активностей их ионов в яблоне нами были получены в период интенсивного ее роста.

По результатам этих исследований можно высказать два, существенно отличающихся друг от друга, предположения, объясняющих изменение содержания органических соединений, особенно азота и фосфора, в органах растений. Одно толкование, согласно которому увеличение абсолютных количеств того или иного элемента минерального питания является результатом одновременного притока данного вещества в этот орган в короткие отрезки времени, исходит из статистического представления о химическом составе различных участков стебля и сопряженных с ними органов. Уменьшение уровня данного элемента минерального питания в органе является выражением наступления периода оттока веществ. Подобная упрощенная трактовка данных о химическом составе растительных органов часто имеет место в физиологической и агрохимической литературе. В наших ранних работах [1, 2], приводя данные о возрастных изменениях количеств элементов и активности их ионов в различных органах, мы, собственно, тоже основывались на подобных представлениях. Им может быть противопоставлена другая кон-

Градиенты распределения общего содержания и активности ионов элементов минерального питания в метанерах (междоузлиях) вдоль оси стебля кукурузы (в мг/100 г сухого вещества)

Междоуз- лие	pH	Общее содержа- ние	Азот			Фосфор		Калий		Натрий		Кальций		Магний		Cl ⁻	
			неорганический			Общее содержа- ние	PO ₄ ⁻³	Общее содержа- ние	K ⁺	Общее содержа- ние	Na ⁺	Общее содержа- ние	Ca ⁺	Общее содержа- ние	Mg ⁺² содержа- ние		
			сумма	NO ₃ ⁺	NH ₄ ⁺												
I+II	5,22	1521	554	310	244	135	52	524	280	138	51	260	46	291	45	351	84
	6,98	2112	732	382	350	321	65	826	457	197	143	325	52	227	51	310	62
III	5,18	1720	607	306	301	162	65	561	302	153	55	281	52	362	65	323	110
	6,20	1880	829	452	377	360	71	890	481	205	165	350	60	353	71	394	52
IV	5,30	1953	493	292	201	143	80	542	261	160	45	252	51	341	52	371	75
	5,40	2030	750	320	430	315	85	873	464	212	182	323	55	283	65	281	81
V	5,36	2106	620	295	325	219	75	529	292	121	61	214	72	120	66	253	90
	6,44	2650	658	317	341	380	125	626	490	150	82	223	61	136	75	193	64
VI	5,10	1823	749	290	459	265	123	542	328	125	53	231	64	152	76	190	97
	6,80	2326	771	306	465	451	78	653	451	170	70	282	82	165	85	181	67
VII	5,34	2320	810	280	530	252	95	530	342	136	75	213	95	180	80	263	101
	6,14	2711	790	307	483	484	120	621	473	142	62	261	92	172	81	185	85
VIII	5,30	2050	810	317	493	290	114	565	304	146	85	242	96	131	75	281	105
	6,08	2631	884	322	562	423	162	672	421	192	91	271	75	110	92	129	90
IX	5,50	2413	897	306	591	228	121	410	361	97	45	166	80	105	91	125	122
	4,40	2652	928	320	108	290	160	423	463	110	66	221	81	127	100	160	85
X	5,50	2260	923	281	642	232	140	441	290	82	74	125	95	127	102	131	115
	5,10	2718	953	300	653	281	125	430	442	93	86	242	97	105	85	110	96
XI	5,50	2329	952	262	690	225	126	435	351	111	95	171	100	105	85	110	95
	7,00	2780	1059	295	765	260	112	446	482	85	70	283	110	132	120	95	110
XII+XIII	5,55	2515	1109	259	850	252	166	461	271	86	61	193	105	131	110	125	107
	6,07	2950	1200	265	935	295	170	452	430	96	85	236	121	107	92	121	126

Таблица 2

Градиенты общего содержания и активности ионов элементов минерального питания в тканях разновозрастных побегов и ствола аблази в период завершения роста и формирования покоящейся почки (мг/100 г сухого вещества)

Ткань	Азот			Фосфор		Кальций		Магний		Калий		Горючий		Хлор
	Общее содержание	NH ₄ ⁺	NO ₃ ⁻	Общее содержание	PO ₄ ⁻³	Общее содержание	Ca ⁺⁺	Общее содержание	Mg ⁺²	Общее содержание	K ⁺	Общее содержание	Na ⁺	
Побеги текущего прироста														
Почки	2926	127	25	275	27	1370	212	360	75	975	840	125	60	65
Кора	1625	547	297	195	153	892	592	265	150	715	697	152	146	75
Древесина	1425	125	178	178	53	1425	427	297	95	532	528	137	115	97
Трехлетние побеги														
Кора	1342	170	198	178	125	978	525	275	115	349	338	110	95	85
Древесина	1245	58	25	194	45	1543	367	331	85	312	295	87	67	127
С т в о л														
Кора	1275	642	312	176	155	645	225	287	97	710	697	125	105	87
Древесина	1127	125	37	185	122	1852	165	470	86	512	425	115	97	135
Сердцевинная древесина	988	627	39	192	115	1957	127	475	85	545	348	119	86	142

IONIC HOMEOSTASIS OF PLANTS. GRADIENTS OF LOCALIZATION
OF MINERAL ELEMENTS AND THEIR IONIC ACTIVITY IN DIFFERENT
METAMERS OF THE STEM AT VARIOUS STAGES OF GROWTH



E. L. BUZUKASHVILI, A. V. GORDETSKY

I. Javakhishvili Tbilisi State University
Institute of Botany Academy of Sciences of Ukraine, Kiev

S u m m a r y

The gradients of distribution of total content of mineral supplying elements (nitrogen, phosphorus, potassium, calcium, magnesium, sodium, chlor) and their ionic activity in organs and tissues of maize and apple in dependence of their age were studied.

The correlation between the total content of elements and their ionic acti-

vity has been studied, which gives a reason for verification of some traditional conception about the distribution gradients of mineral supplying elements in plants based mainly on the analysis of their total content.

Some information is gained about the existence of homeostatic parameters of ionic composition of the plant organs.

УДК 595.76—19

ЭНТОМОЛОГИЯ

ОПИСАНИЕ ЛИЧИНКИ ЭНДЕМИЧНОГО КАВКАЗСКОГО ВИДА
ЖУЖЕЛИЦЫ *ZABRUS (PELOR) TRINII* F.—W. (COLEOPTERA,
CARABIDAE) И ДИАГНОЗ ПОДРОДА *PELOR* ПО ЛИЧИНОЧНЫМ
ПРИЗНАКАМ

К. В. Макаров, Л. Н. Гургенидзе, Н. Г. Рекк

Московский государственный педагогический институт им. В. И. Ленина
Институт зоологии АН Грузии, Тбилиси

Поступила в редакцию 22.09.89

Приводится описание ранее неизвестной личинки жужелицы *Zabrus trinii* F.—W. из подрода *Pelor*, преимагинальные стадии которого изучены слабо.

Эндемичный кавказский вид *Zabrus trinii* распространен по всему Закавказью, известен из Ирана и Турции.

Сравнение личинки *Zabrus trinii* с известными личинками *Z. tenebrioides* Gz., *Z. blaroides* Creutz., *Z. balcanicus* Arf. позволило впервые сформулировать дифференциальный диагноз подрода *Pelor* по личиночным признакам.

Биология и морфология преимагинальных стадий представителей рода *Zabrus* Clairv., вредящих сельскому хозяйству, изучены довольно полно. Особенно много работ, содержащих сведения о *Zabrus* (s. str.) *tenebrioides* — серьезном вредителе зерновых культур [1, 2, 4, 5, 8, 9]. Личиночные стадии видов, входящих в подрод *Pelor*, изучены гораздо слабее. Известны морфологические особенности личинки *Z. blaroides* [1, 3, 4, 5] и весьма неполное описание личинки I возраста *Z. balcanicus*.

Zabrus trinii распространен по всему Закавказью, известен также из Ирана и Турции. В Грузии заселяет преимущественно безлесные предгорные и среднегорные ландшафты, однако встречается и до 2000 м над ур. м. *Zabrus trinii* нередок, местами же, например в среднегорных черноземных степях Южно-Грузинского нагорья, является доминирующим видом жужелиц. Максимум сезонной численности как имаго, так и личинок

отмечается весной.

Материалом к описанию личинок эндемичного кавказского представителя подрода *Pelor*—*Zabrus trinii* послужили 17 личинок третьего возраста и I личинка первого возраста, собранные на Южно-Грузинском нагорье. Для исследования микроморфологических структур часть личинок была заключена в глицерин по стандартной методике [7]. Обозначение сенсорных структур проведено по Буске и Гуле [6]. Основные морфометрические показатели отражены в таблице 1.

Морфология личинки 3-го возраста. Тело коренастое, голова и тергиты буровато-коричневые со слабо пигментированными сигиллами. Вентриты и придатки тела — коричневые.

Голова. Головная капсула короткая и широкая (отношение длины к ширине=5), толстая, с хорошо выраженной мелкоморщинистой скульптурой. Глазные бугорки слабо выступающие, виски выпуклые, с отчетливыми неглубокими бороздками в области хет RA₆ и RA₁₅. Эпикраниальный

шов и затылочная борозда редуцированы. Передняя теңториальная ямка удлиненная, сильно вдавленная. Назале мощное, с двумя толстыми, сильно выступающими зубцами, направленными в стороны и вверх. Коңические сенсиллы представлены типичным набором. Хетом, напротив, сильно модифицирован: на месте щетинок $FR_{4,5}$, $PA_{6,16,17}$ расположены группы из 2—3 толстых и длинных хет (рис. 1—1,2,3).

Антенны типичного строения, стан-

дартный набор сенсилл дополнен ши-пообразными хетами на AN_{13} сегментах (рис. 1—5).

Мандибилу короткие и широкие с сильно утолщенной и расширенной в дорсо-вентральной направлении вершиной (рис. 1—1,3,4). Ретинакул небольшой, массивный; пенициллус и хета MN_2 редуцированы. Вместо MN_1 имеется группа из 3—4 хет, расположенных в продольной бороздке на наружной поверхности мандибил (рис. 1—3).

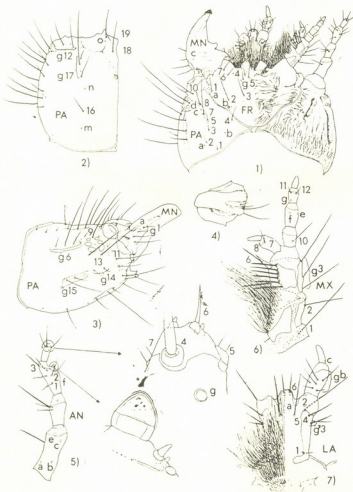


Рис. 1. Личинка 3-го возраста *Zabrus (Pelor) trinii* F.—W.: 1—голова, вид сверху (левые антенна и максилла, правая мандибилу не показаны; скульптура изображена только на правой половине головной капсулы); 2—правая половина головной капсулы, вид снизу; 3—голова, справа (антенны, максиллы и нижняя губа не показаны); 4—левая мандибилу, спереди; 5 — правая антенна (отдельно показаны вершина четвертого членика и сенсоральные придатки на третьем членике); 6 — правая максилла, сверху; 7 — нижняя губа, сверху (фильтрующие волоски показаны только слева)



Максилла (рис. 1—6) типичного для *Zabrin* строения, с широкой мембранозной полоской на вентральной поверхности стипеса. Последний функционально и морфологически разделен на две части: дистальную, несущую группу толстых и длинных шипообразных хет, служащих для раз-

решивания пищи. Лациния очень толстая шиповидная, с массивной хетой на вершине. Последний членик галей и челюстного щупика относительно тонкий и короткий. Набор сенсилл нормальный.

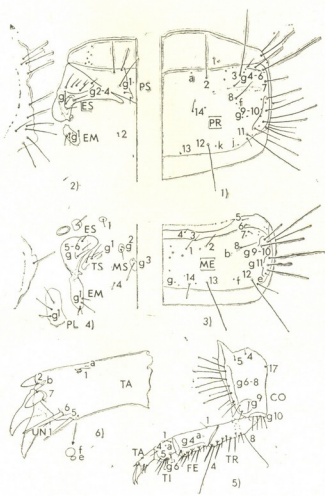


Рис. 2. Личинка 3-го возраста *Zabrus (Pelor) Trinius* F. — W.: 1 — переднеспинка, правая половина сверху; 2 — стерниты и плевриты переднегруди, снизу, правая половина; 3 — среднеспинка, правая половина сверху; 4 — стерниты и плевриты среднегруди, правая половина снизу; 5 — правая средняя нога, спереди; 6 — лапка (отдельно показаны сенсиллы TA_{e,f} при большем увеличении)

мельчения пищи, и проксимальную — фильтрующую, снабженную густой щеткой из длинных ветвистых хет. Мембрана в основании стипеса и на кардо покрыта плоскими хитинизированными бугорками; имеется группа

Дорсальная поверхность нижней губы покрыта многочисленными длинными и тонкими ветвистыми хетами, служащими для фильтрации (рис. 1—7). Аналогичные хеты имеются и на переднем крае цибариума. Хета

LA₃ замещена группой из 3, а сенсилла LA₆ — из 5—6 шипов.

Грудь. Грудные сегменты широкие, явственно поперечные, тергиты сильно склеротизованы, киль на переднем крае средне- и заднеспинки хорошо развит. Характерно наличие многочисленных крупных вторичных сенсилл и добавочных хет, особенно на эпи-

Для них характерно наличие групп из 2—3 хет на месте первичных сенсилл PL₁, EM₁, TS₁ и PS₁ (рис. 2—2,4).

Нога (рис. 2—5) копательная, с сильно укороченной голенью и лапкой, на вентральной поверхности члеников развиты многочисленные шипы (группа TI₆ — 2—3 шипа, группа FE₄ — 4—5 шипов и пр.); тазики с много-

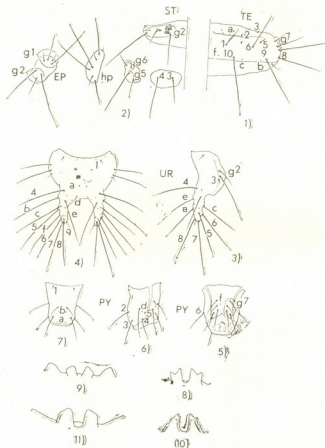


Рис. 3. Детали строения личинок подрода *Pelog*: 1 — тергит четвертого сегмента брюшка, правая половина сверху; 2 — стерниты и плевриты четвертого сегмента брюшка, правая половина снизу; 3 — девятый тергит брюшка, сбоку; 4 — девятый тергит брюшка, сверху; 5 — десятый сегмент брюшка, сверху; 8, 9, 10, 11 — назале; 8 и 10 — личинки 1 возраста, остальные — 3-го; 1—9 — *Z. trinii* F.—W., 10, 11 — *Z. blapoides* Creutz.

плеврах переднегруди (рис. 2—2), в области хет PR_{6,7,9,10}; ME_{9,10,11,12} (рис. 2—1,3). Стерниты слабо хитинизированы за исключением переднегруди и отдельных участков эпистернитов.

численными длинными щетинками в области хет CO_{6,8,9,10}. Характерно сильное развитие хет TA_{5,6} и редукция колоколовидных сенсилл TA_{1,2} (рис. 2—6).

Брюшко. Тергиты брюшка (рис. 3—1) относительно слабо склеротизованы, киль на их переднем крае плохо развит, латеральное хеты TE_2 становится едва различимым. Хетом близок к нормальному типу, характерно увеличение количества щетинок в передних углах тергитов, на месте TE_7 . Вентриты и плевриты слабо склеротизованы, округлые, несут многочисленные длинные и короткие щетины (рис. 3—2).

Цервки (рис. 3—4, 5) укороченные, массивные, нечленистые, их длина не

набором сенсилл, более длинными тонкими шипами в дистальной части стипеса, формой назале (рис. 3—10) острым, треугольным ретинакулом. Яйцевые зубцы состоят из 7—9 довольно длинных зубчиков, крупных в основании ряда и равномерно уменьшающихся к концу.

Диагноз личинки подрода Pelor. Сравнение описанной личинки с материалом по личинкам *Z. tenebrioides* Gz. и *Z. blapoides* Creutz. из коллекции кафедры зоологии и дарвинизма МГПИ им. В. И. Ленина и описанием личинки *Z. balcanicus* Apf. позволило впервые сформулировать дифференциальный диагноз подрода *Pelor* по личиночным признакам. Наиболее характерными из них оказались:

— строение мандибул (расширенная в дорсо-вентральном направлении

Таблица 1

Морфометрические показатели личинки 3-го возраста *Zabrus trinii*

Признак	Среднее арифметическое	Коэффициент вариации
Длина тела	15,6	9,8
Ширина тела	3	10,2
Длина головы	1,1	6,6
Ширина головы	2,8	3,4
Ширина лобной полоски	1,7	3,1
Ширина назале	0,4	4,5
Ширина боковых пластинок	0,2	6,9
Длина переднегруды	2,2	16,6
Ширина переднегруды	3,2	3,7
Длина среднегруды	1,5	11,8
Ширина среднегруды	3,2	4,8
Длина 4-го тергита	0,8	5,8
Ширина 4-го тергита	2,1	4,9
Длина лапки средней ноги	0,3	6,7
Длина церок	0,4	5,9
Длина члеников антенны 1	0,4	5,3
" 2	0,2	5
" 3	0,2	7,4
" 4	0,1	22,5
Длина челюстных щупиков 1	0,1	20
" 2	0,1	6,9
" 3	0,1	0
" 4	0,05	0
Длина стипеса	0,7	8,3
Ширина стипеса	0,3	2
Длина галей 1	0,1	19
" 2	0,1	9,1
Длина подбородка	0,4	12,3
Длина губных щупиков 1	0,2	10
" 2	0,1	16

превышает длины X сегмента. Хетом характеризуется развитием хет на месте конических сенсилл.

Расположение хет и иных сенсорных структур десятого сегмента показано на рис. 3—6,7,8.

Морфология личинки I-го возраста. Личинка I возраста характеризуется нормальным, не модифицированным

Таблица 2

Сравнительная характеристика личинок третьего возраста *Z. blapoides* и *Z. trinii*

Признак	<i>Z. blapoides</i>	<i>Z. trinii</i>
Пунктировка переднеспинки	+	—
Затылочная борозда	+	—
Длина шипов на дистальной части стипеса	0,34 — 0,45	0,8 — 1,0
Ширина стипеса		
Длина церок	0,5 — 0,7	1,0 — 1,1
Длина десятого сегмента		
Длина лапки	1,25 — 1,3	1,8 — 2,1
Ширина лапки		
Ширина головной капсулы, мм	4,2 — 4,5	2,3

вершина и группа из 3—5 хет на наружном крае);

— длинная хета PA_{13} , которая лишь едва короче PA_9 ;

— одна хета у вершины первого членика антенн;

— увеличенное количество хет на голове (группы $PA_{6,15}$), тергитах (группы $PR_{6,7,9,10}$; $ME_{9,10,11,12}$; TE_7), эпиплеврах переднеспинки, плевритах



средне- и заднегруды у личинок 2 и 3 возраста.

Некоторые отличия личинок *Z. blapoides* и *Z. trinii* приведены в табл. 2. Имеющиеся различия в форме назале (рис. 3—10, 11) не всегда могут служить надежным диагностическим признаком вследствие сильного стачивания зубцов при рытье почвы. Количество дифференциальных признаков у личинок первого возраста невелики вследствие слабой выраженности специфических морфологических адаптаций (скульптура, строение ног

и т. д.) и типичного набора сенсорилл. У исследованных видов личинки первого возраста различались числом зубчиков на назале (рис. 3—9, 11) и относительной длиной церок.

Интересно отметить, что по ряду макроморфологических признаков личинки первого возраста *Z. trinii* гораздо ближе к *Z. balcanicus*, чем к *Z. blapoides*. Однако неполнота описания личинок *Z. balcanicus* и отсутствия в нашем распоряжении сравнительного материала не позволяют решить вопрос о степени морфологической близости известных личинок подрода *Pelor*.

ЛИТЕРАТУРА

1. Арабаджиев А., Балева П., Дренски П., Захарева В., Радев Р. Тр. Ин-та зоол. Болг. АН, Книга 2, София, 1953.
2. Знойко Д. В. Защ. раст. от вредит., IV, 3—4, 335—360, 1929.
3. Знойко Д. В. Энтомологическое обозрение, 25, 3—4, 232—238, 1935.
4. Шарова И. Х. Учен. зап. МГПИ им. В. И. Ленина, 124, 7, 4—164, 1958.
5. Шарова И. Х. В кн.: Определитель

- обитающих в почве личинок насекомых, М., 1964, 112—195.
6. Bousquet Y., Goulet H. Can. J. Zool., 63, 4, 573—588, 1984.
7. Goulet H. Coleopt. Bull., 31, 182—381, 1977.
8. Larson S. In: Hansen V., Danmarks Fauna, Biller, XI, 243—386, 1941.
9. Raunaud P. Entomops. Nice, 40, 275—284, 1976.

ენდემური კავკასიური სახეობის ZABRUS (PELOR) TRINII F.—W.-ის მატლის ალფიბრა და ქმეზვარ Pelor-ის დიაგნოზი მატლების ნიშანთვისებათა მიხედვით

ა. მაკაროვი, ლ. ზურბენიძე, ნ. რეკი

ე. ლენინის სახელობის მოსკოვის სახელმწიფო პედაგოგიური ინსტიტუტი, საქართველოს მეცნიერებათა აკადემიის ზოოლოგიის ინსტიტუტი, თბილისი

რ ე ზ ი მ ე

აღწერილია კავკასიაში (აგრეთვე თურქეთსა და ირანში) გავრცელებული ენდემური სახეობის *Zabrus trinii*-ის მატლი. ლარვული სტადიების ნიშნების მიხედვით პირველადაა ჩატარებული ქვე-

გვარ *Pelor*-ის დიფერენციალური დიაგნოზი აღნიშნული სახეობის სხვა სახეობებთან (*Z. tenebrioides* Gz., *Z. blapoides* Greutz., *Z. balcanicus* Apf.) შედარების საფუძველზე.

DESCRIPTION OF LARVAE ZABRUS (PELOR) TRINII F.—W.—
(COLEOPTERA CARABIDAE) OF ENDEMIC CAUCASIAN SPECIES
AND DIAGNOSIS OF SUBGENERA PELOR ACCORDING
TO ITS LARVAE CHARACTERS

K. V. MAKAROV, L. N. GURGENIDZE, N. G. RECK

V. Lenin Moscow State Pedagogical Institute
Institute of Zoology, Georgian Academy of Sciences, Tbilisi

S u m m a r y

Endemic *Zabrus trinii* larvae distributed in the Caucasus (in Turkey and Iran as well) is described.

For the first time differential diagnosis of the species was made on the

basis of comparison of the character of subgenera *Pelor* larvae stages with that of other species (*Z. tenebrioides* Gz., *Z. blapoides* Creutz., *Z. balcanicus* Apf.).

УДК 561:551.782

ПАЛЕОБИОЛОГИЯ

НОВЫЕ ДАННЫЕ О РОДЕ *ALANGIUM* LAMARCK
ИЗ НЕОГЕНОВЫХ ОТЛОЖЕНИЙ ЗАПАДНОЙ ГРУЗИИ

И. И. Шатилова, Х. Н. Пурцеладзе, Г. О. Денсадзе,
Н. В. Махарадзе

Институт палеобиологии им. Л. Ш. Давиташвили АН Грузии, Тбилиси

Институт геологии им. А. И. Джанелидзе АН Грузии, Тбилиси

Поступила в редакцию 28.04.89

До настоящего времени из третичных отложений Грузии были известны две различные формы рода *Alangium*. Первая — *Alangium* sp., приуроченная к олигоценовым отложениям, не имеет аналогов среди современных растений. Вторая, характерная для неогена, идентична китайскому виду *Alangium kurzii* Craib, обитающему ныне в теплоумеренных и субтропических районах Юго-Восточной Азии. Описанное в статье пыльцевое зерно рассматривается как промежуточная форма, обладающая морфологическими признаками обоих таксонов.

В настоящее время имеется немало работ, посвященных описанию пыльцевых зерен рода *Alangium*. Однако все они основаны на ограниченном фактическом материале и новые виды нередко устанавливаются по одному или двум экземплярам. Ревизия всех палеоботанических данных, имеющих по роду *Alangium*, была проведена Р. Айде и его соавторами [8]. Исследователи пришли к заключению, что плоды и листья этого растения захороняются лучше, чем пыльца, так как даже в брэндонских лигнитах, богатых макроскопическими остатками *Alangium*, не удалось обнаружить более двух пыльцевых зерен.

Однако, судя по нашим материалам, а также материалам других исследователей, микроспоры *Alangium* прекрасно сохраняются в ископаемом состоянии. Не исключено, что их редкая встречаемость в отложениях связана с низкой пыльцевой продуктивностью растений.

Число видов *Alangium*, установленных по палинологическим данным, довольно велико [1, 2, 4, 5, 6, 7, 10, 11, 13, 17]. Начиная с эоценового времени, к которому относятся самые древние находки пыльцевых зе-

рен, из различных отложений были выделены следующие формы: *Alangiopollis*¹ *eocaenicus* Krutzsch [11]; *Alangium sibiricum* Lubomirova [3]; *Alangiopollis rarus* Cernjavska [6]; *Alangium barghoornianum* Traverse [17]; *Alangiopollis* (al. *Alangium*) *barghoornianum* (Trav.) Krutzsch [10]; *Alangium barghoornianum* (Trav.) emend. Tarasevicz [4]; *Alangiopollenites*² (= *Alangiopollis*) *simplex* Nagy [13, 14]; *Alangium javanicoides* Cookson [7]; *A. aff. kurzii* Craib [5]; *A. chinense* (Lour.) Harms *A. cf. scandens* Bloumb., *A. cf. javanicum* (Blume) Wang. [1].

Из всех перечисленных таксонов для нас наибольший интерес представляет *Alangium barghoornianum* Tra-

¹ Этот формальный таксон был установлен В. Крутчем [10] в 1962 г. После этого ископаемые пыльцевые зерна стали относить к двум родам — искусственному *Alangiopollis* Kr. и современному *Alangium* Lamarck.

² Под этим названием в 1969 г. Э. Наль [13] описала две формы, которые затем переименовала в *Alangiopollis* [14].

verse. В третичное время это была наиболее распространенная форма, остатки которой встречаются как в Америке, так и в Европе; кроме того, по мнению некоторых авторов, *A. barghoornianum* Traverse является непосредственным предком *A. kurzii* Craib.

Вид *A. barghoornianum* был установлен А. Траверсом [17] в 1955 г. по одному пыльцевому зерну, которое было обнаружено в верхнеолигоценых лигнитах Брэндона (Вермонт, Северная Америка). Название дано в честь ученого Элсо Баргхоорна, изучавшего остатки плодов из этих же отложений. Первоначально А. Траверс сравнил свою форму с *A. chinense* (Lour.) Harms. Находка второго пыльцевого зерна, изученного А. Бартлетт, убедила исследователей в том, что ближайшим потомком *A. barghoornianum* Traverse является *A. kurzii* Craib—китайский вид, ныне обитающий в теплоумеренных и субтропических районах Юго-Восточной Азии. Интересно, что найденные в тех же отложениях плоды, описанные под названием *A. vermontianum* Eyde et Barghoorn, оказались близкими к другому виду — *A. platanifolium* (Sieb. et Zucc.) Harms — листопадной форме, способной переносить довольно суровые зимние условия [8].

Впоследствии пыльца, сходная с *A. barghoornianum* Trav., была найдена В. Крутчем [10] в среднеолигоцен-нижнемиоценовых отложениях Германии. В пяти местонахождениях он обнаружил 10 пыльцевых зерен, которые выделил под названием *Alangiopollis* (al. *Alangium*) *barghoornianum* (Trav.) Krutzsch. Как и А. Бартлетт, В. Крутч сравнил свою форму с *Alangium kurzii* Craib.

Пыльца *Alangiopollis barghoornianum* (Trav.) Kr. была описана из верхнеолигоцен-миоценовых отложений Чехословакии и Венгрии [12, 13, 14, 15].

Из миоцена Русской равнины В. Ф. Тарасевич [4] выделила форму *Alangium barghoornianum* (Trav.) emend. Tarasevicz. Пыльцевые зерна этого таксона, по мнению автора, проявляют сходство с современным *A. kurzii* Craib.

В третичное время на территории Европы, помимо *A. barghoornianum*, существовали и другие виды; некоторые из них обладали, вероятно, весьма ограниченным ареалом.

Alangiopollis eocaenicus Krutzsch был описан из эоценовых отложений Германии. К этому же виду Т. Ритсма [16] относит микроспоры из одновозрастных лондонских глин, хотя Р. Айде [9] ставит под сомнение правильность такого вывода. Пыльца *A. eocaenicus* Kr. была найдена также в эоценовых отложениях Западной Сибири [3].

Alangiopollis rarus Cernjavska [6] установлен в палеогеновых отложениях Болгарии по трем пыльцевым зернам. Как отмечает автор, небольшие размеры пыльцы и характер скульптуры экзины отличают описанные ею экземпляры как от нормальных, так и недоразвитых зерен *A. barghoornianum* (Trav.) Kr.

Вид *Alangiopollis simplex* Nagy [14] был выделен из гельветских отложений Венгрии. Пыльцевые зерна этой формы характеризуются мелкой скульптурой экзины, что, по словам автора, придает им сходство с пыльцой *Alangium chinense* (Lour.) Harms.

Периодом расцвета рода *Alangium* как в Америке, так и в Европе была первая половина кайнозоя. В это время здесь обитали, главным образом, представители секции *Marlea*, к которой относятся все найденные до настоящего времени растительные остатки. Следов других секций не было обнаружено. На основании этого высказывается предположение, что их представители никогда не выходили за пределы области своего нынешнего распространения [8].

Исключая территорию современного ареала, единственной областью в Евразии, где *Alangium* сохраняется до конца неогена, является Западная Грузия. В позднемиоцен-плиоценовых отложениях нами было обнаружено 10 пыльцевых зерен этого рода. Сопоставление с изображением пыльцы ископаемых и современных алангиумов показало, что форма, найденная в неогеновых слоях Колхиды, почти идентична микроспорам *Alangium kurzii* Craib [5]. Более мелкой скульптурой отличается экземпляр из эоцено-

ских отложений. Однако, следует отметить, что изменчивость в размере скульптурных элементов характерна и для пыльцы нынешних представителей этого вида [8].

Из всех пыльцевых зерен, обнаруженных в третичных отложениях Грузии, лишь одно мы не смогли отождествить с *A. kurzii* Craib. Это *Alangium* sp. (рис. 1,2) из олигоценовых

плярлов (рис. 2,2). Приводим сание.

Пыльцевое зерно в полярном положении округло-треугольной формы, трехбороздноопоровое, диаметром 67,2 мкм. Борозды широкие, в длину достигают 30,2 мкм. Экзина толстая (4,8 мкм). Эндэкзина значительно тоньше эктэкзины. Последняя состоит из близко расположенных столбиков

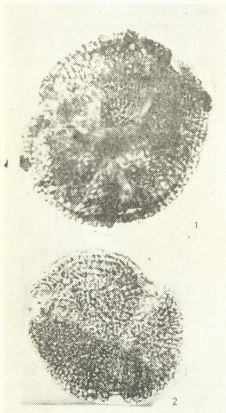


Рис. 1. 1—*Alangium* aff. *kurzii* Craib. Мэотический ярус, р. Гудоу, Западная Грузия; 2—*Alangium* sp. Средний олигоцен, с. Тори, Восточная Грузия

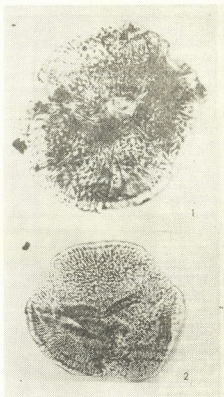


Рис. 2. 1—*Alangium* aff. *kurzii* Craib. Мэотический ярус, р. Гудоу, Западная Грузия; 2—*Alangium* aff. *simplex* Nagy. Мэотический ярус, р. Гудоу, Западная Грузия

слоев с. Тори (Восточная Грузия). Пыльца этой формы обнаруживает сходство с двумя вымершими видами — *Alangiopollis eosaenicus* Kt. и *A. simplex* Nagy.

В настоящее время, при просмотре нового материала из мэотических отложений Абхазии по реке Гудоу, нами было встречено два зерна *Alangium* aff. *kurzii* Craib (рис. 1,1; рис. 2,1). Что касается второго, то оно отличается от всех изученных нами экзем-

с мелкими головками. К порам высота столбиков несколько уменьшается. Скульптура экзины сетчато-бугорчатая. Ячейки мелкие, удлиненные, с тонкими стенками. Некоторые участки экзины почти лишены сетки и видны отдельные бугорки, размер которых варьирует от 0,5 до 6,7 мкм.

Описанное зерно мы сопоставили с *Alangium* sp. и *Alangium* aff. *kurzii* Craib из третичных отложений Грузии. Несмотря на некоторые признаки сход-

ства, от пыльцы обоих таксонов оно отличается более мелкой скульптурой. У *Alangium* sp. столбики выше, головки крупнее (рис. 1,2).

Сравнение с *Alangium* aff. *kurzii* Craib показало, что описанная форма сходна с теми экземплярами, которые обладают сравнительно мелкой скульптурой. Однако в целом все пыльцевые зерна *Alangium* aff. *kurzii* Craib выделяются более толстыми и реже расположенными столбиками, образующими крупную сетку с широкими стенками [5].

Из всех описанных в литературе пыльцевых зерен наш экземпляр ближе всего стоит к *Alangiopollis simplex* Nagy. Поскольку различия прослеживаются главным образом в размерах,

мы выделяем его под названием *Alangium* aff. *simplex* Nagy.

Таким образом, можно говорить о существовании на территории Грузии в третичное время трех различных форм рода *Alangium*: первая встречается в олигоценовых отложениях и проявляет сходство с двумя вымершими видами: *Alangiopollis eoceneus* Kr. и *A. simplex* Nagy; вторая, характерная для неогена, почти идентична современному виду *Alangium kurzii* Craib. Что касается зерна, описанного под названием *Alangium* aff. *simplex* Nagy, то, по нашему мнению, оно является промежуточной формой между *Alangium* sp. и *A. aff. kurzii* Craib, так как обладает морфологическими признаками обоих таксонов.

ЛИТЕРАТУРА

1. Апанова Е. Н., Данг Ван Бат. Бот. журнал, 65, 7, 971—977, 1980.
2. Любомирова К. В. Новые виды древних растений и беспозвоночных СССР, «Наука», М., 1972, 328—333.
3. Любомирова К. В. Труды ВНИГРИ, 374, 1976, 33—46.
4. Тарасевич В. Ф. Бот. журнал, 60, 8, 1194—1198, 1975.
5. Шатилова И. И., Рамишвили И. Ш., Пурцеладзе Х. Н. Палинология в СССР (Статьи советских палинологов к УП МПК), Австралия, 1988, 68—72.
6. Cernjavska S. Review of the Bulgarian Geological Society, XXXI, 1, 33—41, 1970.
7. Cookson J. Roy. Soc. Victoria, 1957, 41 — 54.

8. Eyde R. H., Barlett A., Barghoorn E. S. Bull. of the Torrey Club, 96, 3, 228—314, 1969.
9. Eyde R. Taxon, 21, (4), 471—477, 1972.
10. Krutzsch W. Geologie 11, 3, 261—392, 1962.
11. Krutzsch W. Geologie, 18, 4, 472—487, 1969.
12. Nagy E. Acta Botanica, VIII, 1—2, 153—163, 1962.
13. Nagy E. Annals of the Hungarian Geological Institute, LII, 2, 1969.
14. Nagy E. Geologie Hungarica, Seria Palaeontologica, 47, 1985.
15. Pacitova B. Rozpravy Cesk. Akad. Ved., 76, 13, 56—62, 1968.
16. Reitsma T. Rev. Palaeobot. Palynology, 10, 249—332, 1972.
17. Traverse A. U. S. Dep. Interior Bur. Mines Rep. Invest., 5151, 1955.

ახალი მონაცემები გვარ ALANGIUM LAMARCK-ის შესახებ დასავლეთ საქართველოს ნეოგენური ნალექებიდან

ი. შატროვა, ხ. ფურცელაძე, ზ. დიხაძე, ნ. მახარაძე

საქართველოს მეცნიერებათა აკადემიის ლ. დავითაშვილის სახელობის პალეობიოლოგიის ინსტიტუტი, თბილისი

საქართველოს მეცნიერებათა აკადემიის ალ. ჯანელიძის სახელობის გეოლოგიური ინსტიტუტი, თბილისი

რ ე ზ ი უ მ ე

დღემდე საქართველოს მესამეული ნალექებიდან ცნობილი იყო ალანგიუმების მხოლოდ ორი ფორმა. მათგან ერთერთს *Alangium* sp.-ს, რომელიც ოლიოცენურ

ნალექებში გვხვდება. არ გააჩნია ანალოგები თანამედროვე მცენარეთა შორის. მეორე, ნეოგენისათვის დამახასიათებელი ფორმა კი იდენტურია ამჟამად საქართვე-



საქართველოს
აкадеმიის
ბიულეტენი

აღმოსავლეთ აზიის ზომიერად თბილ და
სუბტროპიკულ რაიონებში გავრცელებულ
ლი ჩინური სახეობისა *Alangium kurzii*
Craib.

ლი ორივე ამ ტაქსონისათვის აღწერილ
თებულ მორფოლოგიურ ნიშნებს ატარებს
და განიხილება როგორც გარდამავალი
ფორმა მათ შორის.

სტატიაში აღწერილი მტერის მარცვა-

NEW DATA ON GENUS ALANGIUM LAMARCK FROM NEOGENE DEPOSITS OF WESTERN GEORGIA

I. I. SHATILOVA, Kh. N. PURTSELADZE, G. O. DEISADZE,
N. V. MAKHARADZE

I. Davitashvili Institute of Paleobiology, Georgian Academy
of Sciences, Tbilisi

S u m m a r y

The different forms of *Alangium*
from the Tertiary deposits of Georgia
have been known till now. The first is
Alangium sp. typical for Oligocene ha-
ving no analogue among the modern
plants. The second, wich is typical for

the Neogene is identical to the modern
Alangium kurzii Craib. The pollen grain
described in the article is considered as
an intermediate form between the two
taxons.

УДК 57715433

МИКРОБИОЛОГИЯ

ПРИМЕНЕНИЕ МЕТОДОВ МАТЕМАТИЧЕСКОГО ПЛАНИРОВАНИЯ ЭКСПЕРИМЕНТА ДЛЯ ОПТИМИЗАЦИИ СРЕДЫ С ЦЕЛЬЮ ПОВЫШЕНИЯ УРОВНЯ БИОСИНТЕЗА ТЕРМОСТАБИЛЬНОЙ ЦЕЛЛЮЛАЗЫ *ASPERGILLUS TERREUS*

Л. В. Середа, Л. Л. Квачадзе, Д. А. Долидзе

Институт биохимии растений АН Грузии, Тбилиси

Поступила в редакцию 05.10.89

С помощью методов математического планирования эксперимента оптимизирована питательная среда для глубинного культивирования продуцента термофильных целлюлаз *Aspergillus terreus*. Получена оптимальная питательная среда следующего состава (%): микрокристаллическая целлюлоза — 1,2, NaNO_3 — 0,3, KH_2PO_4 — 0,2, $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ — 0,05, кукурузный экстракт — 1,5, исходный pH среды — 4,5.

На указанной среде достигнуто увеличение активности фермента на 25% по сравнению с исходным уровнем.

За последние годы отмечается повышенный интерес исследователей к термофильным микроорганизмам — продуцентам целлюлаз. Применение термофильных микроорганизмов в качестве продуцентов ферментов имеет важное практическое значение: высокая температура выращивания препятствует заражению культуры посторонней микрофлорой, повышает скорость роста микроорганизма и тем самым интенсифицирует технологический процесс. Ферменты, образуемые

термофильными грибами, термостабильны, что дает им преимущество при продолжительном использовании в промышленных условиях. Термофильные продуценты целлюлаз встречаются среди бактерий и грибов [4, 7].

Целью настоящей работы является усиление биосинтеза термостабильной целлюлазы термофильного мутантного штамма *Aspergillus terreus* путем изменения концентрации составных компонентов питательной среды.

МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ

В работе использовали культуру мутанта *Aspergillus terreus*, полученную обработкой химическим мутагеном нитрозометил мочевиной исходной культуры *Aspergillus terreus* AT-490 [3], которую выращивали глубинным способом в колбах Эрленмейера (объем 250 мл), содержавших 150 мл среды, на качалке при 270 об/мин и 40°C в течение 96 ч.

Предварительными опытами было установлено, что целлюлазная активность сконцентрирована главным образом (90—95%) в фильтрате куль-

туральной жидкости, поэтому нами исследовались клеточные целлюлазы, содержащиеся в фильтрате культуральной жидкости. Для этого культуральную жидкость центрифугировали при 4000 об/мин в течение 15 мин, и в фильтрате определяли общую целлюлазную активность по фильтровальной бумаге (АФБ). Количество восстанавливающих сахаров определяли по методу Сомоджи-Нельсона [5, 6].

Исходной для оптимизации была среда следующего состава (в%):

микрористаллическая целлюлоза — 2; NaNO_3 — 0,3; KH_2PO_4 — 0,2; $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ — 0,05; кукурузный экстракт — 1,5; вода водопроводная; исходный рН среды — 4,5. Подбор оптимального состава питательной среды осуществляли математическим методом круглого восхождения, представляющим собой сочетание метода

факторного эксперимента и метода градиента [2]. Выбор матрицы планирования и расчета производили в соответствии с указаниями, приведенными в литературе [1, 2]. Наилучший результат трактовался как приближающийся к оптимальному варианту среды.

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

С целью подбора оптимальной концентрации компонентов среды для культивирования *Aspergillus terreus* в начале были взяты основные компоненты исходной среды (среда № 17; табл. 1). Варьировали 4 компонента; исключение — кукурузный экстракт. За исходный уровень ПФЭ-2⁴ (пол-

по абсолютной величине (0,044) превышал его дисперсию, помноженную на t фактор, равный 0,007 ($S\{b\}_t = 0,007$). Отрицательный коэффициент b_1 , который оказался значимым, свидетельствует о необходимости уменьшения концентрации микрористаллической целлюлозы в среде.

Таблица 1

Матрица ПФЭ 2⁴ и результат опытов, поставленных по плану этой матрицы

№ среды	X ₁ микрористаллическая целлюлоза		X ₂ NaNO ₃		X ₃ KH ₂ PO ₄		X ₄ MgSO ₄		Активность фермента, ед/мл по фильтровальной бумаге	Обозначение строк в матрице	Коэффициенты регрессии b _i для активности по фильтровальной бумаге
	код	%	код	%	код	%	код	%			
1	—	1	—	0,2	—	0,1	—	0,02	1,03	X ₀	0,966
2	+	3	—	0,2	—	0,1	—	0,02	0,92	X ₁	—0,044
3	—	1	+	0,4	—	0,1	—	0,02	1,01	X ₂	—0,005
4	+	3	+	0,4	—	0,1	—	0,02	0,92	X ₁ X ₂	0,005
5	—	1	—	0,2	+	0,3	—	0,02	1,03	X ₃	—0,002
6	+	3	—	0,2	+	0,3	—	0,02	0,92	X ₁ X ₃	0,005
7	—	1	+	0,4	+	0,3	—	0,02	0,99	X ₂ X ₃	0,001
8	+	3	+	0,4	+	0,3	—	0,02	0,92	X ₁ X ₂ X ₃	—0,001
9	—	1	—	0,2	—	0,1	+	0,08	1,03	X ₄	—0,001
10	+	3	—	0,2	—	0,1	+	0,08	0,92	X ₁ X ₄	0,004
11	—	1	+	0,4	—	0,1	+	0,08	1,0	X ₂ X ₄	0,002
12	+	3	+	0,4	—	0,1	+	0,08	0,92	X ₁ X ₂ X ₄	—0,002
13	—	1	—	0,2	+	0,3	+	0,08	0,99	X ₃ X ₄	0
14	+	3	—	0,2	+	0,3	+	0,08	0,93	X ₁ X ₃ X ₄	0,002
15	—	1	+	0,4	+	0,3	+	0,08	1,0	X ₂ X ₃ X ₄	0,004
16	+	3	+	0,4	+	0,3	+	0,08	0,93	X ₁ X ₂ X ₃ X ₄	—0,004
17	+	2	+	0,3	+	0,2	+	0,05	1,0		
λ ₁	±	+	±	0,1	±	0,1	±	0,03			S{b _i } _{t₀₅} = 0,007

ный факторный эксперимент) принимался следующий вариант среды (в%): микрористаллическая целлюлоза — 2; NaNO_3 — 0,3; KH_2PO_4 — 0,2; $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ — 0,05. Интервалы варьирования λ₁ (в%): по микрористаллической целлюлозе ±1; по NaNO_3 ± 0,1; по KH_2PO_4 ± 0,1; по MgSO_4 ± 0,03 (табл. 1).

При математической обработке результатов опыта получили коэффициенты регрессии X₁ фактора, который

С учетом результатов перешли к следующему опыту по ПФЭ 2⁴. За исходный уровень принимался следующий вариант среды (в%): микрористаллическая целлюлоза — 1; NaNO_3 — 0,3; KH_2PO_4 — 0,2; $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ — 0,05. Интервалы варьирования λ₁ (в%): по микрористаллической целлюлозе ±0,5; по NaNO_3 ± 0,1; по KH_2PO_4 ± 0,1; по MgSO_4 ± 0,03.



При математической обработке результатов опыта получили коэффициенты регрессии, которые не оказывались значимыми по отношению $S\{b_i\}_{t_{0.05}} = 0,01$. Это означает, что коэффициенты всех факторов оптимальны.

На основе полученных результатов методом математической обработки определили направление градиента для движения к оптимуму [1]. За исходную точку крутого восхождения принимали нулевой уровень ПФЭ 2⁴ (среда № 17; табл. 1).

Шаг восхождения S_i , выраженный

ментов практически одинакова во всех вариантах эксперимента. Видно, концентрации факторов лежат в оптимальной области, причем среда № 8 дает лучший результат. В этих условиях активность по фильтровальной бумаге, по сравнению с исходным уровнем, повышена на 25%.

Таким образом, методом математического планирования эксперимента была получена оптимальная питательная среда для биосинтеза целлю-

Таблица 2

Крутое восхождение по фактору X_1 (микрористаллическая целлюлоза)

№ среды	Ф а к т о р , %				Активность фермента по фильтровальной бумаге, ед/мл
	X_1 микрористаллическая целлюлоза	X_2 NaNO ₃	X_3 KH ₂ PO ₄	X_4 MgSO ₄	
0	2	0,3	0,2	0,05	1,07
1	1,9	0,3	0,2	0,05	1,18
2	1,8	0,3	0,2	0,05	1,13
3	1,7	0,3	0,2	0,05	1,17
4	1,6	0,3	0,2	0,05	1,11
5	1,5	0,3	0,2	0,05	1,11
6	1,4	0,3	0,2	0,05	1,07
7	1,3	0,3	0,2	0,05	1,13
8	1,2	0,3	0,2	0,05	1,25
9	1,1	0,3	0,2	0,05	1,15
10	1,0	0,3	0,2	0,05	1,13
11	0,9	0,3	0,2	0,05	1,11
12	0,8	0,3	0,2	0,05	1,11
13	0,7	0,3	0,2	0,05	1,09
14	0,6	0,3	0,2	0,05	1,11
15	0,5	0,3	0,2	0,15	1,11
16	0,4	0,3	0,2	0,05	1,13
S_i	-0,1	—	—	—	

Примечание: S_i — изменение концентрации фактора при крутом восхождении

в процентах, для микрористаллической целлюлозы был 0,1. План постановки опыта и результаты крутого восхождения приведены в табл. 2.

Полученные результаты показывают, что активность изучаемых фер-

лаз *Aspergillus terreus* следующего состава (в %): микрористаллическая целлюлоза — 1,2; NaNO₃ — 0,3; KH₂PO₄ — 0,2; MgSO₄·7H₂O — 0,05; кукурузный экстракт — 1,5; исходный pH среды — 4,5.

ЛИТЕРАТУРА

1. Максимов В. Н., Федоров В. Д. В сб.: Применение методов математического планирования эксперимента при отыскании оптимальных условий культивирования микроорганизмов, МГУ, М., 1969, 42—46.

2. Налимов В. В., Чернова Н. А. Статистические методы планирования экстремальных экспериментов, «Наука», М., 1965.

3. Середя Л. В. Тез. докл. Респ. конф. молодых ученых по биохимии биополимеров и биотехнологии, Тбилиси, 1985. 50.
4. Hiltz man D. O. Патент, США, № 7736363. 1980.

5. Nelson H. J. J. Biol. Chem., 153, 377-378, 1944.
6. Somogi M. V. J. Biol. Chem., 1952.
7. Zuber N. Chem. Unz. Zeit., 5, 13-15, 1980.

საკვები არის შემადგენლობის ოპტიმიზაცია მისპერიმენტის დაგეგმვის მათემატიკური მეთოდების გამოყენებით ოპტიმიზირებული საკვები არე თერმოდურული ცელულაზების პროდუცენტ *Aspergillus terreus* - ის სიღრმეული კულტივირებისთვის. მიღებული შემდეგი შემადგენლობის ოპტიმალური საკვები არე (%):

ლ. სერედა, ლ. კვაჩაძე, დ. დღლიძე

საქართველოს მეცნიერებათა აკადემიის მცენარეთა ბიოქიმიის ინსტიტუტი, თბილისი

რ ე ზ ი უ მ ე

მეცნიერების დაგეგმვის მათემატიკური მეთოდების გამოყენებით ოპტიმიზირებული საკვები არე თერმოდურული ცელულაზების პროდუცენტ *Aspergillus terreus* - ის სიღრმეული კულტივირებისთვის. მიღებული შემდეგი შემადგენლობის ოპტიმალური საკვები არე (%):

მიკროკრისტალური ცელულოზა — 1,2; NaNO_3 — 0,3; KH_2PO_4 — 0,2; $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ — 0,05; სიმინდის ექსტრაქტი — 1,5, არის pH — 4,5.

აღნიშნულ საკვებ არეზე მიღებული ფერმენტის აქტიობის გაზრდა 25%-ით, საწყის დონესთან შედარებით.

OPTIMIZATION OF THE MEDIUM CONTENT BY MATHEMATICAL METHODS OF EXPERIMENTAL PLANNING TO INCREASE THE LEVEL OF THERMOSTABLE CELLULASE BIOSYNTHESIS OF *ASPERGILLUS TERREUS*

L. V. SEREDA, L. L. KVACHADZE, D. A. DGLIDZE

Institute of Plant Biochemistry, Georgian Academy of Sciences, Tbilisi

S u m m a r y

The deep cultivation medium for thermostable cellulase producers of *Aspergillus terreus* has been optimized by mathematical methods of experimental planning. The optimal medium (%) of the following composition has been obtained: microcrystalline cellulose — 1.2; NaNO_3 —

0,3; KN_2PO_4 — 0,2; $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ — 0,05; extract of maize — 1,5; pH of medium 4,5.

The 25% increase of the enzyme activity in comparison with the initial level has been obtained in the indicated medium.

УДК 663.131.576.8 093.1 (088.8)

МИКРОБИОЛОГИЯ

SHAETOMIUM THERMOPHILE — ПРОДУЦЕНТ ТЕРМОСТАБИЛЬНЫХ ЦЕЛЛЮЛАЗ

Т. Ш. Яшвили, Л. З. Гогилашвили, М. Д. Шаламберидзе,
Л. Л. Квачадзе

Институт биохимии растений АН Грузии, Тбилиси

Поступила в редакцию 15.06.89

Отобраны термофильные микромицеты — продуценты целлюлаз. Выделен *Chaetomium thermophile* — активный продуцент термостабильных целлюлаз. Изучена спонтанная изменчивость штамма, отобран наиболее активный по целлюлазам культурально-морфологический вариант. Подобрана питательная среда для культивирования штамма.

Установлено, что наиболее термостабильным компонентом целлюлазного комплекса является эндо-1,4 β -глюканаза; период полунактивации фермента составляет 215 ± 10 мин.

Способность биосинтеза целлюлаз широко распространена среди микроорганизмов различных таксономических групп. Однако состав и активность компонентов целлюлазных комплексов, продуцируемых различными микроорганизмами, значительно варьируют и зависят от вида и условий его культивирования [3].

Наиболее активными продуцентами целлюлаз являются микроскопические грибы, в частности дейтеромицеты, базидиомицеты и аскомицеты, которым принадлежит значительная роль в разрушении клетчатки.

Целлюлозоразрушающее свойство грибов впервые установлено Де-Бар-

ри в 1886 г. Экстракт, разрушающий клеточные оболочки растений, полученный им из мицелия гриба, был назван цитазой [1].

За последние годы отмечается повышенный интерес к термофильным микромицетам. Наряду с общеизвестными преимуществами технологии на базе термофильных микромицетов можно предположить, что целлюлазы термофилов должны обладать повышенной термостабильностью [2, 4, 6, 8].

Цель настоящего исследования — поиск термофильного микромицета продуцента термостабильных целлюлаз.

МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ

Материалом для отбора термофильного продуцента целлюлаз служила коллекция микроскопических грибов, выделенных из различных почвенно-климатических областей Грузии.

Поверхностное культивирование микромицетов проводили на модифици-

рованной агаризованной среде Чапека—Докса следующего состава (г/л): NaNO_3 — 0,3; KH_2PO_4 — 0,2; $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ — 0,05; кукурузный экстракт — 1,5% и агар-агар — 2; pH среды — 6,3.

Глубинное культивирование проводили в течение 4 суток на среде (г/л):

микрористаллическая целлюлоза — 2,0; $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ — 0,13; пептон — 1,5; KH_2PO_4 — 0,68; $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ — 0,05; CaCl_2 — 0,02; кукурузный экстракт — 1,5%; pH среды — 4,5.

Культивирование грибов осуществляли при 40°C на круговой качалке (200 об/мин) в течение 96 ч. Предварительными опытами было установлено, что целлюлозолитическая активность сконцентрирована главным образом (90—95%) в фильтрате культуральной жидкости, поэтому нами исследовались внеклеточные целлюлазы, содержащиеся в фильтратах культуральной жидкости. Для этого культуральную жидкость центрифугировали при 4000 об/мин в течение 15 мин, в фильтрате определяли активности целлюлаз: эндоглюканазы (по Na-KMЦ), общую целлюлозолитическую активность (АФБ) по фильтровальной бумаге и целлюбиазу по целло-

биозе. Количество восстанавливающих сахаров определяли по методу Сомджи—Нельсона [7, 9]. Для определения целлюбиазной активности гидролиз целлюбиазы проводили при 50°C в течение 10 мин. Глюкозу определяли глюкозооксидазным методом [5].

Ферментативную активность выражали в ед/мл фильтрата культуральной жидкости. За единицу эндоглюканазной активности по Na-KMЦ принимали количество фермента, образующее 1 мкМ восстанавливающих сахаров при 1%-ной концентрации субстрата в 1 мин. За единицу активности по фильтровальной бумаге принимали количество фермента, образующее 1 мкМ восстанавливающих сахаров в 1 мин. За единицу целлюбиазной активности принимали количество фермента, образующее 2 мкМ глюкозы за 1 мин при концентрации целлюбиозы 2×10^{-3} М.

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

Из коллекции типовых культур микромицетов лаборатории биотехнологии были отобраны термофильные микромицеты — продуценты целлюлаз. Внеклеточные активности термофильных микромицетов представлены в табл. 1.

terreus AT-490, *A. wentii*, *Chaetomium thermophile*.

Учитывая важнейшее условие практической реализации процесса ферментативного гидролиза целлюлозы — наличие термостабильных ферментных препаратов целлюлаз, выдерживаю-

Таблица 1

Внеклеточные активности целлюлаз термофильных микромицетов

Штамм	Активность, ед/мл			
	эндоглюканазная	по Na-KMЦ	по ФБ	целлюбиазная
1. <i>Aspergillus terreus</i> AT-490	4,1	18,5	0,5	0,5
2. <i>A. terreus</i> 17P	3,2	8,0	0,4	0,1
3. <i>A. versicolor</i>	4,6	2,0	0,55	0,59
4. <i>Awentii</i>	3,5	1,4	0,68	0,50
5. <i>Sporotrichum pulverulentum</i>	5,7	13,5	0,3	—
6. <i>S. thermophile</i>	0,9	0,85	0,4	0,4
7. <i>Chaetomium globosum</i>	1,2	1,0	0,3	0,2
8. <i>Ch. thermophile</i>	1,5	1,2	0,1	0,5

Как видно из таблицы, целлюлазный комплекс термофильных грибов содержит все компоненты целлюлаз, за исключением *Sporotrichum pulverulentum*, в составе которого отсутствует целлюбиаза.

В результате проведенных исследований отобраны наиболее активные продуценты целлюлаз: *Sporotrichum pulverulentum*, *Aspergillus versicolor*, *A.*

терреус (65°) и исключающих соответственно бактериальное заражение среды. Нами были изучены термостабильные свойства эндоглюканазы штамма.

С целью изучения термостабильных свойств целлюлаз штамма был получен технический ферментный препарат целлюлаз (с помощью осаждения его из культуральной жидкости этиловым спиртом в соотношении культуральная жидкость — спирт 1:3).

Активности спиртоосажденного препарата целлюлаз *Chaetomium thermophile* ниже следующие (ед/г): эндоглюказы — 53,0; по Na-КМЦ — 115,0; по ФБ — 7,0; по целлобиозе — 50,0.

При получении препаратов ферментов осаждением ацетоном (соотношение объемов ацетона и культуральной жидкости 2,5:1), изопропанолом (1,5:1) происходило образование медленно формирующихся осадков, что затрудняло отделение белка при центрифугировании и, соответственно, высушивание получаемых осадков. Кроме того, выход по активностям целлюлаз был меньше на 20—40%, поэтому эти данные в работе не представлены.

Поскольку нашей задачей было выявление продуцента наиболее термостабильной эндоглюказы, а не мак-

1,4 β -глюканаза, причем период ее полуинактивации составляет 215 \pm 10 мин [6]. Результаты этих опытов представлены на рис. 2. Судя по данным этого рисунка в высокотемпературном режиме целлюлазный комплекс *Chaetomium thermophile* оказался стабильным в течение часа. Термостабильность эндоглюказы *Ch. thermophile* значительно превосходит известный коммерческий препарат «Онозука R-10».

Для изучения термостабильности целлюлазного комплекса, расщепляющего нерастворимый субстрат, определяли время полуинактивности фермента ($t/2$) — по образованию восстанавливающих сахаров в операционных условиях гидролиза микрокристаллической целлюлозы в колонном реакторе ферментом, адсорбиро-

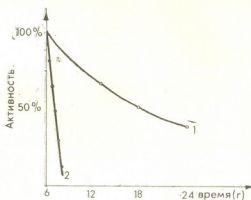


Рис. 1. Гидролиз микрокристаллической целлюлозы препаратами: 1. *Chaetomium thermophile*; 2. Onozuka R-10

симальной активности, то мы инкубировали ферментные растворы при разных значениях температуры и по убывли активности определяли наиболее термоустойчивую форму эндоглюказы. Опыты проводились в 0,05 М ацетатном буфере при pH 4,5 в отсутствии субстрата.

Результаты исследований термостабильности при 65° представлены на рис. 1. Данные этого рисунка наглядно свидетельствуют, что наиболее термостабильным компонентом целлюлозного комплекса оказалась эндо-
4. Серия биологическая, т. 17, № 2

ванном на целлюлозе при 65° и при pH 4,5.

Отбор проб производили через шесть часов и анализировали на содержание восстанавливающих сахаров до фактического прекращения выхода растворимых сахаров.

Допуская возможность существования разных морфологических и физиологических вариантов в культуре *Ch. thermophile* и не исключая возможность получения более активного варианта, изучалась спонтанная изменчивость штамма. Исследовано око-

ло 10 тыс. колоний и в результате выделено два культурально-морфологических варианта, которые отличаются по активности отдельных компонентов.

thermophile было установлено, что внесение солодовых ростков в питательную среду приводит к повышению активности внеклеточных целлюлаз (табл. 3).

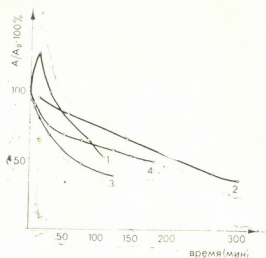


Рис. 2. Термостабилизация целлюлаз: 1 — по фильтровальной бумаге; 2 — по вискозиметрической активности; 3 — по целлюлазной активности; 4 — по Na—КМЦ-азной активности

Наиболее активным оказался 1-й культурально-морфологический вариант, который в дальнейшей работе использовался под тем же названием *Chaetomium thermophile* (табл. 2).

Таким образом, в результате проведения экспериментальных работ отобран термофильный штамм — продуцент термостабильных целлюлаз, выделен активный вариант и подобра-

Таблица 2
Биосинтез целлюлаз разными культурально-морфологическими вариантами *Chaetomium thermophile*

Вариант	Количество в %	Активность, ед/мл			
		эндоглюканазная	по Na КМЦ	по ФБ	целлюлазная
I	72	1,5	1,2	0,1	0,5
II	28	0,9	0,8	0,05	0,3

Таблица 3
Влияние солодовых ростков на активность внеклеточных целлюлаз *Chaetomium thermophile*

Питательная среда	Активность, ед/мл			
	эндоглюканазная	по Na КМЦ	по ФБ	целлюлазная
Исходная среда	1,5	1,2	0,1	0,5
Исходная среда + солодовые ростки (10г/л)	2,0	2,5	0,2	0,5

С целью дальнейшего увеличения активности целлюлаз в глубинных условиях выращивания *Chaetomium*

на питательная среда для культивирования штамма, обеспечивающая повышенный синтез фермента.

ЛИТЕРАТУРА

1. Билай В. И. Биологически активные вещества микроскопических грибов и их применение, Киев, «Наукова думка», 1965.
2. Билай Т. И., Мусич Е. Г. Микробиол., ж., 43, 4, 608—612, 1981.
3. Квачадзе Л. Л., Чхартишвили Д. А., Михлин Э. Д., Квеситадзе Г. И. Прикл. биохим. и микробиол., XXI, 5, 624—630, 1985.
4. Логинова Л. Г., Исмаилова Д. Ю., Гужова Э. П., Иванова И. И., Бурденко Л. Г. В кн.: Целлюлазы микроорганизмов, «Наука», М., 1981, 94—102.
5. Щербухин В. Д., Миронова Л. И., Кондышева А. В., Грюнер В. С. Прикл. биохим. и микробиол., 6, 4, 467—470, 1970.
6. Kvesit'adze G. I., Kvachadze L. L., Aleksidze T. I., Chkhartishvili D. A. Acta Biotechnol., 6, 1, 101—106, 1986.
7. Nelson H. J. J. Biol. Chem., 153, 2, 375—379, 1944.
8. Skinner A. W., Tokuyama T. USA Patent N408328, 1978.
9. Somogi M. V. J. Biol. Chem., 195, 2, 19—23, 1923.

CHAETOMIUM THERMOPHILE — თერმოსტაბილური ცელულაზების პროდუცენტი

თ. იაშვილი, ლ. გოგილაშვილი, მ. შალამბერიძე, ლ. კვაცაძე

საქართველოს მეცნიერებათა აკადემიის მეცნარეთა ბიოქიმიის ინსტიტუტი, თბილისი

რეზიუმე

შესწავლილია ცელულაზების პროდუცენტი თერმოფილური მიკრომიცეტები. შერჩეულია *Chaetomium thermophile* — თერმოსტაბილური ცელულაზების პროდუცენტი. შესწავლილია შტამის სპონტანური ცვალებადობა ცელულაზების ბიოსინთეზის მიხედვით. გამოყოფილია ყვე-

ლაზე აქტიური კულტურალურ-მორფოლოგიური ვარიანტი. შტამის კულტივირებისათვის შერჩეულია საკვები არე.

დადგენილია, რომ ცელულაზური კომპლექსის ყველაზე აქტიური კომპონენტია ენდო-1,4 β-გლუკანაზა, რომლის ნახევრადინაქტივაციის პერიოდი 215 ± 10 წუთია.

CHAETOMIUM THERMOPHILE — THE PRODUCENT OF THERMOSTABLE CELLULASES

T. Sh. IASHVILI, L. Z. GOGILASHVILI, M. D. SHALAMBERIDZE, L. L. KVACHADZE

Institute of Plant Biochemistry, Georgian Academy of Sciences, Tbilisi

Summary

Thermostable micromycetes — the cellulase producents have been studied. *Chaetomium thermophile*—the active producent of thermostable cellulases has been isolated. Spontaneous variability of the strain has been studied. The cultural-morphological variant — most active one according to cellulases has been selected. The nutrient

medium for cultivation of the strain has been chosen.

It has been established that the most thermostable component of cellulase complexes is endo-1,4 β-glucanase. The period of semiinactivation of the enzyme is 215 ± 10 min.

УДК 616.248—576.8.077.3

ИММУНОЛОГИЯ

КВЕРЦЕТИН-ИНДУЦИРОВАННОЕ ПОДАВЛЕНИЕ НЕСПЕЦИФИЧЕСКОЙ Т-КЛЕТОЧНОЙ ПРОЛИФЕРАТИВНОЙ АКТИВНОСТИ У БОЛЬНЫХ АТОПИЧЕСКОЙ БРОНХИАЛЬНОЙ АСТМОЙ

Г. В. Гургенидзе, Н. Р. Бзишвили

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

Поступила в редакцию 05.09.89

Исследовали влияние флавоноида кверцетина на пролиферативную активность лимфоцитов периферической крови больных атопической формой бронхиальной астмы с применением метода бласттрансформации моноуклеарных клеток. Выявлено дозозависимое полное или частичное подавление кверцетином митоген-индуцированного пролиферативного ответа как общего пула Т-лимфоцитов, так и его различных субпопуляций. Кверцетин одинаково подавлял бластонеогенез лимфоцитов как практически здоровых лиц, так и больных бронхиальной астмой. Обсуждаются возможные механизмы, опосредующие иммуносупрессивное действие кверцетина.

Одним из наиболее распространенных и современных методов эффективного лечения аллергических заболеваний, в частности атопической формы бронхиальной астмы, является применение т. н. мембраностабилизирующих препаратов (хромгликат натрия, задитен, иффирал и др.), которые, укрепляя клеточные мембраны тканевых мастоцитов и базофилов периферической крови, тем самым предотвращают аллерген-индуцированное высвобождение биологически активных веществ (гистамин, серотонин, SRS-A и т. п.), в свою очередь опосредующих альтерацию «шок-органов» и клиническую манифестацию аллергических заболеваний.

Между тем, как показали некоторые исследования [7, 8], ряд растительных веществ, представляющий собою 2-фенил-4-хромоны [1], а также продукты их гликозилирования (т. н. флавоноиды) обладают аналогичными свойствами и, таким образом, являются сильными ингибиторами дегрануляции сенсibilизированных «клеток-мишеней» аллергии [4, 9]. Так например, в ряде работ бы-

ло достоверно продемонстрировано сильное *in vitro* подавление флавоноидами (кверцетин, апигенин, таксифолин, рутин, кемпферол) аллерген- и митоген-индуцированного выхода из базофилов и тучных клеток гистамина [13, 14, 15, 16, 17], SRS-A [10], 5- и 12-липоксигеназ [10, 21], ³H-арахидоната [11], являющихся общепризнанными медиаторами анафилаксии, *in vivo* вызывающими различные патофизиологические эффекты.

Исходя из вышесказанного, детальное исследование биологических свойств флавоноидов представляется вопросом весьма интересным и не лишены определенных перспектив. Хотя тут же следует отметить, что несмотря на некоторый успех, достигнутый в изучении действия флавоноидов на биохимические процессы аллергических реакций, подверженность иммунологической стадии формирования заболевания их влиянию фактически не изучена (не считая единичные работы [20]). Поэтому и нет достоверных сведений о воздействии флавоноидов на «пусковые механизмы» аллергических процессов, опосре-

двух иммунокомпонентными клетками и обуславливающих иммунопатологический генез заболевания.

Целью настоящего исследования и являлось изучение воздействия некоторых флавоноидов (в частности кверцетина) на иммунную систему обследо-

дваемых больных и тем самым определение «иммунологических» эффектов указанных веществ с учетом некоторых показателей, характерных для клеточно-опосредованного иммунного ответа.

МАТЕРИАЛ И МЕТОДИКА

Было исследовано 32 больных атопической формой бронхиальной астмы (сенсibilизация к аллергенам домашней пыли и к пыльцевым аллергенам) серий — Н, D, G, Т («Pharmacia Diagnostica») — возраст от 19 до 48 лет. Контрольную группу составили 16 практически здоровых лиц (доноры крови).

Функциональное состояние клеточно-опосредованного иммунитета оценивали с помощью микроцеллюлярного радиоизотопного метода постановки реакции бласттрансформации лимфоцитов: мононуклеарные клетки периферической крови, выделенные на одноступенчатом градиенте плотности фиколл-верографина (1077), культивировали в течение 72 ч в среде RPMI-1640 («Flow Labs»), содержащей 10% инактивированной телячьей эмбриональной сыворотки, 20 мМ буферного раствора HEPES, 20 мМ L-глутамин («Gibco»), 1,0 г/л NaHCO_3 , 2,5 мкг/мл фунгизона («Gibco»), 100

мкг/мл стрептомицина и 100 ед/мл пенициллина. Бластогенез клеток в культурах стимулировали митогенами лектинного происхождения: фитогемагглютинином — ФГА и конканавалином А — КонА («Pharmacia F. Ch»), а также митогеном лаконоса — МЛ («Sigma Ch. C.») с и без добавления возрастающих концентраций (5—25—50—75—100 мкМ) кверцетина («Merck»). Проллиферативный ответ культур оценивали по уровню включения ^3H -метилтимидина в ДНК стимулированных и нестимулированных лимфоцитов. По соотношению включения ^3H -метилтимидина в митоген-активированные культуры клеток к радиометрическим показателям тех же культур, содержащих кверцетин в различных концентрациях, определяли характер влияния исследуемого препарата, а также % кверцетин-обусловленных изменений бластного ответа лимфоцитов.

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

Как показали результаты проведенных исследований, добавление в начале инкубации в культуральную систему возрастающих разведений кверцетина вызывало дозо-зависимую полную или частичную отмену включения ^3H -метилтимидина (а, следовательно, и клеточной пролиферации). При этом указанная закономерность выявлялась при использовании всех трех митогенов. Высокие концентрации препарата (100 мкМ) полностью подавляли митоген-активированный бластогенез лимфоцитов, что объясняется общим лимфоцитотоксическим действием кверцетина (суправитальная окраска клеток трипановым синим). Более низкие концентрации (75—50—25 мкМ) препарата вызывали дозо-зависимую частичную отмену клеточной пролиферации. Применение же самых высоких разведений квер-

цетина (5 мкМ) практически не влияло на бластогенную активность стимулированных лимфоцитов (рис. 1). При этом следует отметить, что по данным проведенных исследований наблюдалось достоверное различие в ингибирующем действии кверцетина в зависимости от вида применяемого митогена. А именно, наиболее сильно подавлялся ФГА- и КонА-стимулированный бластный ответ, тогда как МЛ-активированные лимфоциты проявляли сравнительную резистентность при применении соответствующих концентраций кверцетина. Существенным результатом проведенных исследований следует считать и тот факт, что кверцетин одинаково подавлял лимфопротлиферативную активность мононуклеаров как больных, так и практически здоровых лиц (статистически достоверных различий у обследован-



ных групп лиц в показателях кверцетин-обусловленной ингибиции при применении аналогичных разведений препарата не отмечалось).

Таким образом, помимо сильных антиаллергических (антигистаминных) свойств *in vitro*, кверцетин проявляет и выраженное иммуносуп-

перы и В-лимфоциты (МЛ) (связанный бластогенез) менее чувствительны к ингибирующим эффектам указанного флавоноида. Исходя из этого интересным представляется механизм воздействия кверцетина на иммунокомпетентные клетки. Согласно исследованиям ряда авторов фла-

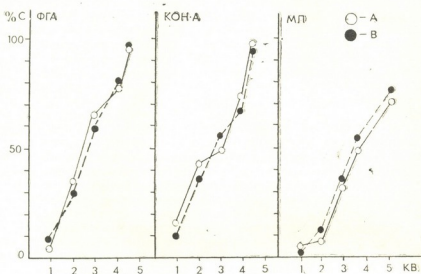


Рис. 1. Влияние кверцетина на митоген-индуцированную пролиферативную активность лимфоцитов практически здоровых лиц и больных atopической бронхиальной астмой: А — практически здоровые лица; В — больные atopической бронхиальной астмой; 1 — 5: *in vitro* концентрации кверцетина (5 — 100 мкМ соответственно). Результаты представлены в % супрессии

рессирующее действие независимо от изначального функционального состояния клеточно-опосредованного иммунитета (у обследованных больных atopической бронхиальной астмой наблюдалось статистически достоверное снижение ФГА- и Кона-индуцированного лимфопролиферативного ответа по сравнению с практически здоровыми лицами).

Констатируя факт иммуносупрессивного действия кверцетина, следует учесть, что не все компоненты иммунной системы одинаково подвержены его воздействию. Так например, согласно результатам наших исследований, если общий пул Т-лимфоцитов (ФГА-стимулированные клетки) и супрессорная их субпопуляция (Кона-стимулированные лимфоциты) активно подавляются кверцетином, то поликлонально активированные Т-хел-

воноиды, и в частности кверцетин, активно подавляют различные функции нейтрофилов [2, 5, 19] и цитотоксических Т-клеток [20] путем ингибиции активности фосфодиэстераз [3, 18], регулирующих внутриклеточный уровень и метаболизм циклических нуклеотидов, что, например, лежит в основе кверцетин-обусловленного подавления сократительной активности миоцитов [6]. При проявлении иммуносупрессирующих свойств не исключено подобное воздействие кверцетина на биохимические процессы «клетки-мишени» (в данном случае лимфоцита), хотя более реальным надо считать воздействие кверцетина, аналогично глюкокортикоидам, на синтез и продукцию интерлейкина-2 [22], являющегося необходимым сигналом для клеточной пролиферации. С другой стороны, это соображение про-



тиворечит данным некоторых исследователей [4, 12], указывающих на общность антигенных детерминант некоторых пыльцевых аллергенов со структурой кверцетина и ряда других флавоноидов, что, в свою очередь, означает сильную стимуляцию кверцетином выработки макрофагами интерлейкина-1 *in vivo* с последующей активацией сенсибилизированных клонов иммунокомпетентных клеток, обуславливающих каскад интерлейки-

на-2 и, соответственно, лимфопротлиферативную реакцию.

Исходя из вышесказанного следует заключить, что выявление иммуносупрессивного действия кверцетина является весьма важным фактом, хотя механизм указанного эффекта, а следовательно, и возможности клинического применения флавоноидов требуют дальнейшего своего исследования.

ЛИТЕРАТУРА

1. Запрометов М. Н. Основы биохимии фенольных соединений, М., 1974.
2. Bennei J. P. *Arzneimittelforsch*, **31**, 2, 433—439, 1981.
3. Beretz A., Anton R. *Experientia*, **34**, 5, 1054—1055, 1978.
4. Berrens L. *Pharmac. Weekblad.*, **119**, 36, 870—873, 1984.
5. Busse W. J. *Allergy and Clin. Immunol.*, **73**, 5, 801—804, 1984.
6. Fanning M. *Int. Arch. Allergy Appl. Immunol.*, **71**, 371—375, 1983.
7. Fewtrell C. *Biochem. Biophys. Acta*, **469**, 52—56, 1977.
8. Fewtrell C., Gomperts B. *Nature*, **265**, 5, 635—640, 1977.
9. Foreman J. C. J. *Allergy and Clin. Immunol.*, **73**, 6, 769—774, 1984.
10. Hope W. C., Welton A. F. *Biochem. Pharm.*, **32**, 2, 367—371, 1983.
11. Lee T. P., Matteliano M. *Life Sci.*, **31**, 10, 2765—2769, 1982.

12. Malley A. *Int. Arch. Allergy Appl. Immunol.*, **63**, 113—119, 1980.
13. Middleton E., Drziewiecki G. J., *Immunol.*, **127**, 2, 546—550, 1981.
14. Middleton E. *Biochem. Pharmacol.*, **31**, 9, 1449—1453, 1982.
15. Middleton E. J. *Allergy and Clin. Immunol.*, **71**, 1, 94—98, 1983.
16. Ogasawara H. L. J. *Allergy and Clin. Immunol.*, **78**, 2, 321—328, 1986.
17. Pearce F. J. *Allergy and Clin. Immunol.*, **73**, 6, 819—822, 1984.
18. Ruckstuhl M., Landry Y. *Biochem. Pharm.*, **30**, 6, 697—701, 1981.
19. Schneider C. J. *Adv. Exp. Med. Biol.*, **121**, 2, 371—374, 1979.
20. Schwarts A., Sutton S. *Immunopharmacol.*, **4**, 1, 125—129, 1982.
31. Showell H. J. J. *Reticuloendothel. Soc.*, **30**, 1, 167—169, 1981.
22. Smith K. A. J. *Immunobiol.*, **61**, 1, 157—162, 1982.

არასპაცივიური T-უჯრედული აპტიოზის დამრბუნვა კვირცეტინით ატოპური ბრონქული ასთმით დაავადებულ პირებში

ბ. ბურბანიძე, ნ. ზარევილი

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

რ ე ზ ი უ მ ე

შესწავლილ იქნა ფლავონოიდ კვერცეტინის გავლენა ატოპური ბრონქული ასთმით დაავადებულ პირთა უჯრედული იმუნიტეტის ზოგიერთ მაჩვენებელზე. კერძოდ, კვერცეტინის სხვადასხვა *in vitro* განსავეებების გავლენა PHA—, Co-

ნA- და PWM-ინდუცირებულ უჯრედულ პროლიფერაციაზე ისწავლებოდა ლიმფოციტების ბლასტრანსფორმაციის რადიოიზოტოპური მიკროკულტურალური მეთოდის საშუალებით. როგორც ჩატარებულმა გამოკვლევებმა ცხადჰყო, კვერცე-

ტინის აღმავალი განზავებების დამატება კულტურალურ სისტემაში იწვევდა მიტოგენ-სტიმულირებული უჯრედული პროლიფერაციის და შესაბამისად ლიმფოციტებში ^3H -მეთილთიმიდინის ჩართვის ნაწილობრივ ან სრულ დათრგუნვას. განსაკუთრებით ძლიერ ინჰიბიციას იწვევდა კვერცეტინის დამატება PHA- და ConA-აქტივირებულ ლიმფოციტურ კულტურებში, მაშინ როდესაც PWM-სტიმულირებული უჯრედები ავლენდნენ შედარებით რეზისტენტობას კვერცეტინის ზემოქმედებ-

სადმი. ფლავონოიდის მოქმედებით აღნიშნული კანონზომიერებანი უცვლელად ვრცელდებოდა როგორც ბრუნწვენიანი სიმით დაავადებულ პირებზე, ასევე პრაქტიკულად ჯანმრთელ ადამიანებზე. ჩატარებული კვლევის შედეგად ნაჩვენებ იქნა კვერცეტინის უნივერსალური იმუნოსუპრესორული ეფექტი, რაც მის გამოკვეთილ ანტიალერგიულ (ანტიჰისტამინურ) მოქმედებასთან ერთად უთუოდ მრავალმნიშვნელოვანია ბრონქული ასთმის მკურნალობისათვის.

QUERCETIN-INDUCED INHIBITION OF NONSPECIFIC T-CELL PROLIFERATIVE ACTIVITY IN PATIENTS WITH ATOPIC BRONCHIAL^a ASTHMA

G. V. GURGENIDZE, N. R. BZISHVILI

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

S u m m a r y

The influence of flavonoid quercetin on the cell-mediated immunity of atopic patients with bronchial asthma was studied. Namely, the effect of various in vitro concentrations of quercetin on the PHA — ConA — and PWM — induced cell proliferation was estimated using radiometric microculture technique of lymphocyte blast transformation.

The addition of ascending concentrations of quercetin to the culture system was shown to results in dose-related abolition or partial inhibition of cell proliferation and correspondingly ^3H —

thymidine incorporation. Most strongly were inhibited PHA—and ConA—stimulated cultures, while PWM—activated lymphocytes were relatively resistant to the inhibitory action of quercetin. Regularity of quercetin influence was observed in patients with bronchial asthma as well as in healthy subjects. Investigations have revealed the immunosuppressive activity of quercetin which together with its clear-cut antiallergic (antihistaminic) effect may be important in the treatment of bronchial asthma.

УДК 616.831.4/6+612.57 : 616.155.32 : 576
312.32/38

ГЕНЕТИКА

О ВЛИЯНИИ КОМБИНИРОВАННОГО ПРИМЕНЕНИЯ УФ ОБЛУЧЕНИЯ И ГИПЕРТЕРМИИ НА ЧАСТОТУ ХРОМОСОМНЫХ АБЕРРАЦИЙ В ЛИМФОЦИТАХ ЧЕЛОВЕКА В РАЗЛИЧНЫХ ФАЗАХ КЛЕТОЧНОГО ЦИКЛА

Г. Г. Хачапуридзе, Т. Д. Махарадзе, Т. К. Качарава, Н. Ю. Лукина,
Н. Д. Двалишвили, Ц. Г. Сарিশвили

*Научно-производственный центр генетической экологии МЗ Республики Грузия,
Тбилиси*

Поступила в редакцию 13.07.89

Рассматриваются данные изучения комбинированного влияния УФ облучения и гипертермии на частоту хромосомных aberrаций в лимфоцитах человека во всех фазах клеточного цикла. Результаты исследования показали, что при комбинированном воздействии во всех фазах клеточного цикла наблюдается явно выраженный цитогенетический эффект, уровень которого меньше мутагенного эффекта у УФ-света, но больше, чем при гипертермии. Термическая радиосенсибилизация отсутствует. Высказано предположение, что при сочетании воздействии этих экзогенных факторов не подавляется система, контролирующая выход поврежденных и анеуплоидных клеток в митоз.

За последнее время в радиобиологии существенно возрос интерес к проблеме термической радиосенсибилизации клеток различного происхождения [2, 3, 8, 9, 12, 14, 19]. Известно, что облучение рентгеновскими лучами клеток саркомы мышей линии ВР-8 перед тепловым воздействием не влияет на количество погибших клеток, в то время как тепловое воздействие перед облучением значительно увеличивает их число. Автор предполагает, что увеличение числа погибших клеток после сочетанного воздействия гипертермии и облучения обусловлено потенцированием радиационных повреждений теплом, а не усилением тепловых повреждений радиацией [13]. Результаты проведенных ранее в нашей лаборатории исследований показали, что гипертермия в диапазоне температур 42—50°C обладает явно выраженным эффектом [5]. Одним из молекулярных механизмов, приводящих в ходе прогрессивного клеточного цикла к индукции хромосомных

aberrаций, можно считать образование в ДНК апуриновых участков и ряда других термopовреждений [1, 20].

Однако, следует отметить, что изучению вопросов взаимодействия эффектов гипертермии и УФ-облучения на хромосомном уровне в клетках человека до сих пор уделялось недостаточное внимание.

Основной целью проводимых нами работ является изучение механизмов нарушения наследственных структур под воздействием различных экзогенных и эндогенных факторов, изменяющих гомеостаз клетки, а также степени и роли этих нарушений в различных фазах клеточного цикла, для изыскания средств и методов воздействия на такие основные процессы жизнеобеспечения клетки, как репарация и репликация ДНК. Исходя из этого, основной задачей настоящей работы было исследование комбинированного воздействия УФ-света и гипертермии на частоту хромосомных

аберраций в лимфоцитах человека во всех фазах клеточного цикла. Воздействие УФ-облучения — сильного мутагена, вызывающего поражение ДНК с образованием пиримидиновых димеров в сочетании с гипертермией, также обладающей мутагенным, но более слабым эффектом с образованием апуриновых сайтов, может по-

зволить получить новые данные о термической сенсibilизации УФ-света, тем более, что роль УФ-излучения как экологического фактора для живых организмов в результате серьезных нарушений плотности озонового слоя атмосферы непрерывно возрастает [7].

МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ

Краткосрочные культуры лимфоцитов получали из цельной крови здоровых доноров в среде 199 с добавлением 30%-ной инактивированной бычьей сыворотки и фитомагглютина (Difcor) по полуконсервативной методике Хангерфорда [11]. На 27, 40 и 48 ч культивирования, т. е. соответственно в G_1 , S и G_2 фазах клеточного цикла [6], лимфоциты подвергали комбинированному воздействию УФ-света (254 нм, доза 17,2 Дж/см²) и гипертермии (46°C, 5 мин). Контролем служили культуры клеток, подвергавшиеся одноразовым действиям УФ-лучей или гипертермии в эти же строго фиксированные сроки.

Фиксацию материала производили на 58 ч культивирования. Метафазные пластинки за последние 2 ч накаливали колхицином. Показателями повреждающего действия этих экзогенных факторов на хромосомы, определяемыми на 100 клетках от каждого донора, служили: доля клеток с абберациями хромосом, доля анеуплоидных метафаз, среднее число хроматидных и хромосомных разрывов на 1 клетку. Число хромосомных разрывов определяли исходя из того, что фрагмент является результатом одного разрыва, а дицентрик (или кольцо) — двух.

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

Частота спонтанных разрывов хромосом в лимфоцитах человека в наших экспериментах составляла 0,03 разрыва на 1 клетку. При прогревании лимфоцитов донора *in vitro* в те-

чение 5 мин до 46°C приблизительно в 3 раза увеличилась доля абберантных и в 2—3 раза доля анеуплоидных метафаз по сравнению с контрольными показателями во всех фа-

Таблица

Частота хромосомных аббераций в лимфоцитах здорового донора при комбинированном воздействии УФ-лучей и гипертермии во всех фазах клеточного цикла

Время обработки	Типы одиночных и комбинированных воздействий	Доля аббератных метафаз, %	Среднее число хроматидных разрывов на клетку	Среднее число хромосомных разрывов на клетку	Общее число разрывов на клетку	Доля анеуплоидных метафаз, %
27 ч G_1	УФ	19 ± 3,9	0,17 ± 0,04	0,22 ± 0,05	0,39 ± 0,06	2 ± 1,4
	Г	8 ± 2,72	0,04 ± 0,02	0,04 ± 0,02	0,08 ± 0,03	16,0 ± 4,0
	УФ и Г	11 ± 3,1	0,07 ± 0,03	0,16 ± 0,04	0,23 ± 0,05	5 ± 2,2
40 ч S	УФ	41 ± 4,9	0,38 ± 0,06	0,38 ± 0,06	0,76 ± 0,08	5 ± 2,2
	Г	10 ± 3,0	0,09 ± 0,03	0,02 ± 0,01	0,11 ± 0,03	18,0 ± 4,2
	УФ и Г Г и УФ	35 ± 4,8 30 ± 4,6	0,38 ± 0,06 0,25 ± 0,05	0,26 ± 0,05 0,28 ± 0,05	0,64 ± 0,08 0,53 ± 0,07	7 ± 2,6 1 ± 1
48 ч G_2	УФ	30 ± 4,6	0,28 ± 0,05	0,24 ± 0,05	0,52 ± 0,07	3 ± 1,7
	Г	10 ± 3,0	0,10 ± 0,03	0,07 ± 0,03	0,17 ± 0,04	23 ± 4,8
	УФ и Г	18 ± 3,9	0,14 ± 0,04	0,16 ± 0,04	0,30 ± 0,06	6 ± 2,4
Контроль		3,0 ± 0,8	0,02 ± 0,006	0,01 ± 0,001	0,03 ± 0,007	7,1 ± 1,0



зах клеточного цикла. В этом случае среднее число разрывов на 1 клетку претерпело существенное увеличение во всех стадиях клеточного цикла и особенно в фазе C_2 .

УФ-облучение индуцирует 10—20-кратное повышение среднего числа разрывов хромосом на 1 клетку и 5—10-кратное увеличение доли aberrантных метафаз, без изменения уровня другого показателя — доли анеуплоидных метафаз во всех фазах клеточного цикла по сравнению с контролем. Результаты, полученные в опытах с облучением УФ-светом, а также в экспериментах при прогревании клеток согласуются с ранее полученными данными ряда исследователей [4, 5, 10].

При комбинированном воздействии УФ-света с гипертермией в соответствующей последовательности доля aberrантных метафаз во всех исследованных случаях меньше, чем при действии только УФ-света, но больше, чем при прогревании клеток до $46^\circ C$. Аналогична динамика изменений и другого показателя — среднего числа разрывов на 1 клетку. Совсем иная ситуация наблюдается по выходу анеуплоидных метафаз при комбинированном воздействии. В этом случае доля анеуплоидных метафаз во всех фазах клеточного цикла не отличается от контрольных величин. В фазе C_1 при сочетании воздействии преобладали aberrации хромосомного типа, в фазе S — хроматидного типа, а в фазе C_2 выход aberrации обоего типа были приблизительно одинаковым.

Таким образом, термическая сенсibilизация лимфоцитов человека при УФ-облучении отсутствует, о чем свидетельствует снижение доли aberrантных метафаз и среднего числа разрывов хромосом на 1 клетку во всех стадиях клеточного цикла в

сравнении с аналогичными показателями при действии только УФ-облучения. Следует считать, что система контроля выхода поврежденных и анеуплоидных метафаз в митоз не ингибируется при сочетании воздействия экзогенных факторов, так как количество анеуплоидных клеток при комбинированном воздействии УФ-света и гипертермии во всех стадиях клеточного цикла не отличается от контрольных величин, несмотря на то, что изолированное действие гипертермии существенно ингибирует этот процесс [5]. Функционированием этой же системы можно объяснить тот факт, что при комбинированном воздействии мутагенный эффект меньше, чем при действии только УФ-лучей.

Наши данные позволили высказать предположение, что последовательность экзогенных факторов, УФ-света и гипертермии не оказывала влияния на сенсibilизирующий эффект УФ-облучения, исходя из незначительных различий в количестве aberrантных метафаз и среднего числа разрывов в S фазе клеточного цикла при двух комбинациях: УФ-облучение с гипертермией и наоборот. Хотя по данным Курта [13] при сочетании воздействия X-лучей и гипертермии очередность экзогенных факторов значительно влияет на гибель клеток.

Во время проведения экспериментов по сочетанному воздействию УФ-облучения и гипертермии были получены косвенные результаты о их воздействии на продолжительность клеточного цикла лимфоцитов периферической крови доноров. В частности, показано, что максимальный выход метафазных пластинок запаздывает приблизительно на 4 ч и приходится на 58 и культивирования лимфоцитов.

Полученные данные не позволяют судить о степени подавления репарации ДНК, что требует проведения специальных экспериментов.

ЛИТЕРАТУРА

1. Виленчик М. М. Биологические основы старения и долголетия, «Знание», М., 1987.
2. Гемзаева И. А., Габаин Н. С., Якубов Р. Р. Азерб. мед. ж., 12, 22—25, 1987.
3. Каплав В. П., Чернышева Н. М., Конопляников А. Г. Радиобиология, 27, 6, 753—756, 1987.
4. Михельсон В. М., Гентер Е. И., Плескач Н. М., Прокофьева В. В. Радиационная биология, Л., 1977.
5. Нергадзе С. Г., Хачапуридзе Г. Г., Качарава Т. К., Имедадзе М. Ш., Цинцадзе М. А. Цитология, 30, 4, 495—497, 1988.



6. Хачапуридзе Г. Г., Михельсон В. М., Жестяников В. Д. Радиобиология, **78**, 18, 1979.
7. Чанкова С., Винарова К. Селекционный наука, **25**, 2, 31—37, 1987.
8. Чеботарев Е. Е., Демина Э. А. Цитология и генетика, **22**, 2, 66, 1988.
9. Bai Yoshu Zhang Xiuxia, Guan Shurong, Chunxua Fanshe Isue Ui, Fanxu, Chin. J. Radiol. med. and Prot., **7**, 5, 345—347, 1987.
10. Dewey W. L., Westra A., Miller H. H. Int. J. Radiat. Biol., **20**, 505—520, 1971.
11. Hungerford D. A. Stain. Techn., **40**, 333—338 1965.
12. Konings A. W. T., Garritsma J. B., Kampinga H. H. Ynt J. Radiat. Biol., **51**, 5, 929, 1987.
13. Kurt G. Radiat Res., **110**, 3, 450—457, 1987.
14. Kamel M. H., Hum B. P., Marigold I. C. L., M. E. M. S. M. M. A. J. Submicroscop. Cytol. and Pathol., **20**, 1, 185—193, 1987.
15. Leyko W., Bartosz G., Int. J. Radiat. Biol., **49**, 5, 743—770, 1986.
16. Miffers S. Experientia, **43**, 8, 931—933, 1987.
17. Nicholson Paul, Osborn Rupert W. Howe Christophers FEBS Lett., **221**, 1, 110—114, 1987.
18. Shamsuzzan Kari, Radiat. Phys. and Chem., **31**, 1—3, 193—197, 1988.
19. Van Rijn G., Vander Berg J. Int. J. Radiat. Biol., **52**, 4, 646, 1987.
20. Warters Raymond L., Brizgus Lucy M. J. Cell Physiol., **133**, 1, 144—150, 1987.

ულტრაიისფერი სხივის და ჰიპერთერმიის ერთობლივი ზემოქმედება ქრომოსომული აბერაციების სიხშირეზე ადამიანის ლიმფოციტებში უჯრედული ციკლის სხვადასხვა ფაზაში

ბ. ხაპააურიამ, თ. მახარამ, თ. კახარავა, ნ. დვალისვილი, ნ. ლუკინა, ც. სარიშვილი

საქართველოს რესპუბლიკის ჯანმრთელობის დაცვის სამინისტროს გენეტიკური ეკოლოგიის სამეცნიერო-საწარმო ცენტრი, თბილისი

რ ე ზ ი უ მ ე

განხილულია ულტრაიისფერი (უი) გამოსხივების და ჰიპერთერმიის კომბინირებული მოქმედების მონაცემები ქრომოსომული აბერაციების სიხშირეზე ადამიანის ლიმფოციტებში უჯრედული ციკლის ყველა ფაზაში. გამოკვლევების ანალიზმა გვიჩვენა, რომ კომბინირებული ზემოქმედებისას უჯრედული ციკლის ყველა ფაზაში შეინიშნება მკვეთრად გამოხატული ციტოგენეტიკური ეფექტი, რომლის დონე

ნაკლებია უი სხივის მუტაგენურ ეფექტზე, მაგრამ მეტია, ვიდრე ჰიპერთერმიის დროს. თერმულ რადიოსენსიბილიზაციას არა აქვს ადგილი. გამოთქმულია მოსაზრება, რომ ამ ექსპოზიციური ფაქტორების ერთობლივი მოქმედების დროს სისტემა, რომელიც აკონტროლებს დაზიანებული და ანეუბლიოიდური უჯრედების მიტოზში გამოსვლას არ არის დათრგუნული.

THE COMBINED INFLUENCE OF ULTRAVIOLET (UV) LIGHT AND
HYPERTHERMIA ON THE FREQUENCY OF CHROMOSOME
ABERRATION OF HUMAN LYMPHOCYTES IN VARIOUS
PHASES OF CELLULAR CYCLES

G. G. KHACHAPURIDZE, T. D. MAKHARADZE, T. K. KACHARAVA, N. I. LUKINA,
N. D. DVALISHVILI, Ts. G. SARISHVILI

The Scientific-Industrial Centre of Genetical Ecology of the Health Care
Ministry of Republic of Georgia, Tbilisi

S u m m a r y

The results of a combined action of UV irradiation and hyperthermia on the chromosome aberration frequency in human lymphocytes throughout the cellular cycle are considered. At the combined action, in all phases of cellular cycle a well-pronounced cytogenetic effect was detected and its level was less than UV

light mutagenous effect, but more than that of hyperthermia. There occurred no thermoradiosensibility. It is suggested that the combined action of these factors does not suppress the system that controls the exit of damaged and aneuploid cells into the mitosis.

УДК 577.3

БИОФИЗИКА

КАЛОРИМЕТРИЧЕСКОЕ ИССЛЕДОВАНИЕ ТЕПЛОВОЙ ИНАКТИВАЦИИ ГЛИКОФОРИНА В ЭРИТРОЦИТАРНЫХ МЕМБРАНАХ СОБАКИ

*Тбилисский государственный институт усовершенствования врачей
Институт биологической физики АН СССР, Пущино*

**В. Р. Акоев, Г. Г. Жадан, Р. В. Бобровский, Ц. Х. Салия,
В. Л. Шныров**

Поступила в редакцию 05.10.89

Дифференциальная сканирующая микрокалориметрия использована для исследования структурных переходов гликофорина в эритроцитарных мембранах собаки. Показано, что в зависимости от ионной силы и величины рН нагрев индуцирует от 4 до 6 термодинамически необратимых переходов. Используя рН-чувствительность тепловых переходов мембран, наряду с такими модификациями, как экстракция гликофорина и ковалентное связывание белком электрофоретической полосы 3 анионного ингибитора, выявлена полоса теплоглощения с максимумом 61,5°C в 20 мМ фосфате натрия, рН 7,4, характеризующая процесс тепловой инактивации гликофорина.

В последнее время сканирующая микрокалориметрия широко используется для исследования структурных особенностей биологических мембран. Несмотря на некоторые успехи в отнесении наблюдаемых этим методом пиков аномального поведения теплоемкости как функции температуры [3, 4], существует большое количество нерешенных проблем. В частности, для эритроцитарных мембран не иден-

тифицированы тепловые переходы, связанные с инактивацией основного сиалогликопротеида — гликофорина, который составляет чуть меньше 10% от общего количества белка мембраны [5]. В данной работе изложены результаты микрокалориметрического исследования тепловой денатурации гликофорина в составе эритроцитарных мембран собаки.

МЕТОДИКА

В работе использовали беспородных собак с массой тела 18—35 кг. Кровь у наркотизированных собак забирали из вены передней лапы. В качестве антикоагулянта использовали раствор гепарина (5000 ед/мл), которым смачивали шприц и который добавляли в пробирки для сбора крови из расчета 250 мкл на 10 мл крови. Во всех экспериментах кровь до получения мембран эритроцитов хранили на льду не более получаса.

Кровь центрифугировали (1000 г, 5 мин, 0—4°C) и освобождали от

плазмы и клеток белой крови. Осадок эритроцитов трижды промывали при тех же условиях центрифугирования трех-четырёх-кратным объемом среды, содержащей 150 мМ хлористого натрия и 5 мМ фосфата натрия, рН 8,0.

Эритроциты гемолизировали в 20—25-кратном объеме 5 мМ фосфата натрия, рН 8,0, при 2—4°C и центрифугировали (30 000 г, 20 мин, 0—4°C). Осадок промывали при тех же условиях центрифугирования три-четыре раза средой гемолиза и, как мини-

мум, 2 раза средой, в которой проводили последующие измерения.

Щелочную экстракцию белков каркаса проводили в соответствии с методикой, предложенной в работе Стека и Иу [6].

Для получения эритроцитарных мембран, модифицированных ингибитором анионного транспорта — 4,4'-diisothiocyanostilbene-2,2'-disulfonic acid (DIDS), эта ковалентно связывающая метка вносилась в суспензию эритроцитов (10%-ный гематокрит) в 150 мМ хлористого натрия и 5 мМ фосфата натрия, pH 7,4, содержащем 0,5% бычьего сывороточного альбумина. После этого клетки лизировали в соответствии с вышеописанной методикой и получали мембраны эритроцитов.

Для удаления гликофорина из интактных мембран эритроцитов последние были суспендированы в 7 объемах 0,05%-ного тритона X-100 в 20 мМ фосфате натрия, pH 7,4 и выдержива-

ли на льду 20 мин [7]. После этого мембраны осаждали центрифугированием (30 000 g, 25 мин, 0—4°C). Для увеличения степени экстрагируемости гликофорина процедуру обработки мембран тритоном X-100 проводили дважды. На заключительной стадии осадок модифицированных мембран трижды промывали 20 мМ фосфатом натрия, pH 7,4, содержащем 0,5%-ный бычий сывороточный альбумин, и трижды 20 мМ фосфатом натрия, pH 7,4, без альбумина.

Калориметрические измерения проводили на дифференциальном сканирующем микрокалориметре ДАСМ-4 (НПО «Биоприбор» АН СССР), со скоростью прогрева 1 град/мин.

Электрофорез проводили в плоских гелях с линейным градиентом плотности акриламида (5—15%) в присутствии 0,1% додецилсульфата натрия. Окрашенные гели денситометрировали на автоматическом приборе ДСА-1 (ИБФ АН СССР).

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

На рис. 1 представлены результаты измерений величины избыточной теп-

лоемкости мембран эритроцитов собаки в 20 мМ фосфате натрия в зависимости от величины pH. Как видно из этого рисунка, эритроцитарные мембраны собаки характеризуются, по крайней мере, шестью тепловыми переходами (все они термодинамически необратимы), которые мы в соответствии с возрастанием температуры обозначили буквенными индексами А, В, С и D [1, 2].

Термограммы обработанных щелочью эритроцитарных мембран имеют в 20 мМ фосфате натрия, pH 7,4, только два четко выраженных максимума на кривых теплопоглощения — при 63 и 78°C (рис. 2). При этом чувствительным к ингибитору анионного транспорта является только первый переход (С-переход). Электрофорез в полиакриламидном геле обработанных щелочью мембран эритроцитов собаки обнаруживает при окраске гелей Кумасси (рис. 3) две полосы с кажущимися молекулярными весами около 90 (электрофоретическая полоса 3) и около 30 кД, а при окраске по Шиффу видно, что связанными с мембраной остаются практически все гликопротеиды. Следовательно, можно ожидать, что в термограммах, об-

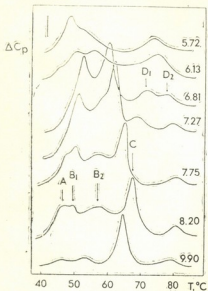


Рис. 1. Избыточная удельная теплоемкость как функция температуры для мембран эритроцитов собаки в 20 мМ фосфате натрия при различных значениях pH. Вертикальная отметка здесь: 100 Дж/К·кг



работанных щелочью мембран эритроцитов собаки «спрятаны» тепловые переходы всех оставшихся в мембране полипептидных структур. Для про-

На рис. 4 приведены температурные зависимости теплоемкостей безгликофоринных (1) и интактных (2) мембран эритроцитов собаки. Обращает

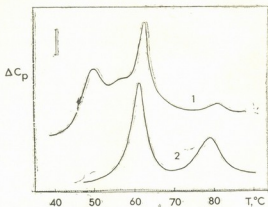


Рис. 2. Избыточная удельная теплоемкость как функция температуры для интактных (1) и подвергнутых щелочной обработке (2) мембран эритроцитов собаки в 20 мМ фосфате натрия, рН 7,4

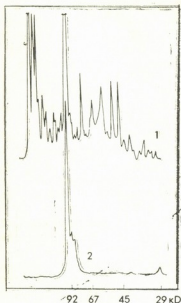


Рис. 3. Денситограммы гель-электрофореза интактных (1) и обработанных щелочью (2) мембран эритроцитов собаки

верки этого предположения мы использовали известную процедуру «удаления» из эритроцитарных мембран основного гликопротеида — гликофорина.

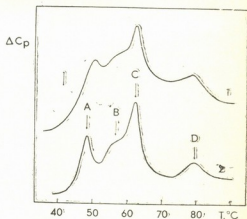


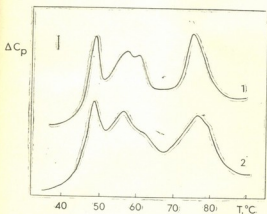
Рис. 4. Избыточная удельная теплоемкость как функция температуры для «безгликофоринных» (1) и интактных (2) мембран эритроцитов собаки в 20 мМ фосфате натрия, рН 7,4

на себя внимание факт, что после удаления гликофорина относительная интенсивность А и С переходов уменьшилась по сравнению с В и D. Можно предположить, что в условиях нашего эксперимента, кроме гликофорина, экстрагируется частично спектрин и белок полосы 3 (соответствен-



ხო A и C-переходы) [1, 2]. Действительно, электрофоретический контроль показал, что при экстракции гликофрина всегда происходит потеря мембранами 10—20% спектрина. Количество же белка полосы 3 остается не-

редхода. Для проверки такого предположения мы воспользовались высокой чувствительностью местоположения термотропных переходов эритроцитарных мембран в шкале температур от величины pH и тем, что ковалентное связывание мембранами ингибитора анионного транспорта сдвигает плавление белка, ответственного за анионный транспорт в эритроцитах, почти на 15°C в высокотемпературную область.



რის. 5. Избыточная удельная теплоемкость как функция температуры для DIDS-модифицированных интактных мембран эритроцитов собак (1) и DIDS-модифицированных мембран, из которых на 75% проэстрагирован гликофрин (2) в 20 мМ фосфате натрия, pH 7,44

На рис. 5 представлены температурные зависимости теплоемкостей модифицированных DIDS интактных мембран эритроцитов (1) и модифицированных DIDS мембран, из которых на 75% удален гликофрин (2). В результате такой модификации в зоне В-перехода мы обнаружили при pH 7,44 две полосы с максимумами 58,5 и 61,5°C (рис. 5, кривая 1). Исходя из зависимости температуры максимумов тепловых переходов для эритроцитарных мембран от pH (рис. 1), мы можем сказать, что переход с максимумом 58,5°C — это В₂-переход, тогда как переход с максимумом 61,5°C — это новый, ранее нами не идентифицированный, переход, который мы назвали F-переходом, и который, если сравнить между собой кривые 1 и 2 рисунка 5, соответствует термоинактивации гликофрина.

изменным. Это явилось основанием для предположения о том, что гликофрин может плавиться в зоне С-пе-

ЛИТЕРАТУРА

1. Brandts J. F., Erickson L., Lysko K., Schmaritz A. T., Taverna R. D. *Biochemistry*, **16**, 3450—3454, 1977.
2. Brandts J. F., Taverna R. D., Sadasivan E., Lysko K. *Biochim. Biophys. Acta*, **512**, 566—578, 1978.
3. Lysko K. L., Carlson R., Taverna R., Snow J., Brandts J. F. *Biochemistry*, **20**, 557C—5576, 1981.
4. Shnyrov V. L., Berman A. L. *Biophys. Chem.*, **47**, 355—362, 1988.
5. Steck T. L. *J. Cell Biol.*, **62**, 1—19, 1974.
6. Steck T. L., Yu. J. J. *Supramol. Structure*, **1**, 220—232, 1973.
7. Wolosin J. M., Ginsburg M., Cabantchik Z. I. *J. Biol. Chem.*, **252**, 2419—2427, 1977.

ქალღის მერთროციტარულ მემბრანებში გლიკოფორინის სითბური ინაქტივაციის კალორიმეტრული კვლევა

3. აპოშვილი, ზ. შაღანი, რ. ბობროვსკი, ც. სალია, ზ. შნიროვი

თბილისის ექიმთა დახელოვნების სახელმწიფო ინსტიტუტი
სსრკ მეცნიერებათა აკადემიის ბიოლოგიური ფიზიკის ინსტიტუტი, პეშინა

რ ე ზ ი უ მ ე

დიფერენცირებული სკენირებული მიკროკალორიმეტრია გამოყენებულია ქალღის ერითროციტულ მემბრანებში გლიკოფორინის სტრუქტურული გადასვლე-

ბის შესასწავლად. ნაჩვენებია, რომ იონურ ძალასა და pH-ის სიდიდებზე დამოკიდებულებით გათბობა ახდენს 4-დან 6-მდე თერმოდინამიკურ შეუქცევად გა-



დასვლის ინდუცირებას. გამოკვლეულ იქ-
ნა მემბრანების სითბური გარდაქმნების
pH-მგრძობელობა ისეთ მოდიფიკაციებ-
თან ერთად, როგორცაა გლიკოფორინის
ექსტრაქცია და ანიონური ინჰიბიტორის
ელექტროფორეზული ზოლი 3-ის ცილას-

თან კოვალენტური შერწყმა, რის შედეგადაც
დაც გამოვლინდა თბოშთანქმის ზოლი
მაქსიმუმით 61,5°C 20 მილიმოლ, pH-7, 4,
ნატრიუმის ფოსფატში, რომელიც ახასია-
თებს გლიკოფორინის სითბური ინაქტივა-
ციის პროცესს.

**CALORIMETRIC STUDY OF THERMAL INACTIVATION OF
GLYCOPHORIN IN THE DOG ERYTHROCYTE MEMBRANES**

V. R. AKOEV, G. G. ZHADAN, R. V. BOBROVSKI, Ts. Kh. SALIA, V. L. SHNYROV

Institute for Advanced Medical Training, Ministry of Health, Tbilisi
Institute of Biological Physics, USSR Academy of Sciences, Pushchino

S u m m a r y

Structural transitions in glycophorin in the dog erythrocyte membranes have been studied by means of differential scanning microcalorimetry. Heating of the erythrocyte membrane was shown to induce, depending on pH and ionic strength, from 4 to 6 thermodynamically irreversible transitions. Using the pH sensitivity of the effect and modifications

of the membranes such as an extraction of glycophorin and covalent labelling of the band 3 protein by anionic inhibitor, we have succeeded in revealing absorption peak with the maximum at 61.5°C in 20 mM sodium phosphate buffer at pH 7.4, that is specific for the glycophorin thermal denaturation.

УДК 547.963.3

МОЛЕКУЛЯРНАЯ БИОЛОГИЯ

ВЛИЯНИЕ ТЕПЛООВОГО ФАКТОРА НА КОНФОРМАЦИОННЫЕ ПЕРЕХОДЫ В ДНК

Л. М. Высочек, Г. Р. Геташвили, В. В. Герасимов, М. З. Циლოსани

Институт молекулярной биологии и биологической физики АН Грузии, Тбилиси

Поступила в редакцию 11.09.89

Изучено влияние температуры предварительного нагрева на тепловую денатурацию ДНК методом сканирующей калориметрии. Показано, что конформационный переход в ДНК в данных условиях имеет сложный многостадийный характер и сильно зависит от температуры предварительного нагрева. Проведено разложение полученных кривых плавления на составляющие простые пики и показана применимость данного разложения для анализа полученных результатов.

Изучение процессов восстановления вторичной структуры полинуклеотидов чрезвычайно важно и имеет не меньшее значение, чем исследование процессов ее разрушения. Имеются две группы факторов, влияющих на денатурацию и ренатурацию ДНК: факторы, зависящие от свойств самой ДНК, и факторы, связанные с условиями денатурации и последующей ренатурации. Известно, что для большинства природных ДНК при ренатурации наблюдается заметный гистерезис изменения их гидродинамических и оптических свойств [8, 9]. Этот гистерезис обусловлен кинетическими эффектами при ренатурации, конкурентным процессом образования внутримолекулярных шпиклей, а в случае ДНК эукариот, и несовершенным спариванием повторяющихся последовательностей. Вместе с тем известно, что кинетика и степень денатурации и ренатурации должны сильно зависеть от того до какой температуры нагревался раствор ДНК [12]. Согласно данным некоторых работ, плавление

двойной спирали не сопровождается полным расхождением цепей вплоть до перегрева раствора выше температуры исчезновения гипохромного эффекта [7], и поэтому охлаждение раствора ДНК, нагретого до какой-либо температуры в пределах кривой плавления должно приводить к моментальной ренатурации [2]. Последнее положение, справедливое для вирусных ДНК, в случае ДНК эукариот кажется маловероятным. Из всего сказанного ясно, что полное описание релаксационной кинетики плавления ДНК является исключительно трудной задачей. Поэтому на первом этапе исследования мы сосредоточили внимание лишь на тепловых эффектах, отражающих последовательное разрушение двойной спирали вплоть до полного разделения цепей. С этой целью и было проведено микрокалориметрическое исследование структурных переходов в эукариотической ДНК, подвергавшейся предварительному нагреву.

МАТЕРИАЛ И МЕТОДИКА

В экспериментах использовалась коммерческая ДНК из селезенки крупного рогатого скота, подвергавшаяся дополнительной очистке [10]. Примеси РНК и белка после очистки не превышали 3 и 1,5% соответственно.

Концентрация ДНК определялась на спектрофотометре «Specord UV VIS» по величине поглощения на длине 260 нм (принимая $E(P) = 6500$) и равнялась в калориметрических экспериментах $1,4 \cdot 10^{-3}$ Мр. В качестве ра-



створителя использовался 0,1 М NaCl. рН растворов контролировался до и после экспериментов на рН-метре «рН-673» и составлял 5,7—5,9. Эксперименты проводились на микрокалориметре ДАСМ-1М. Раствор ДНК предварительно прогревался до определенных значений температур, лежащих в тем-

пературном интервале температуры денатурации ДНК, после чего в течение 60 мин температура снижалась до 10°C. При повторном нагреве кривые, характеризующие изменение относительной теплоемкости растворов ДНК, снимались во всем температурном интервале денатурации.

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

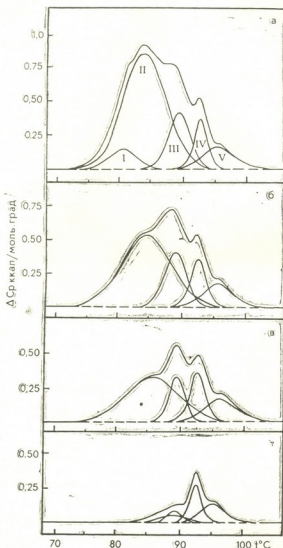


Рис. 1. Кривые плавления ДНК, подвергавшейся предварительному нагреву: а — без предварительного нагрева, б — после предварительного нагрева до 84°C, в — до 88°C, г — до 90°C. I — V — простые пики, на которые разлагались кривые плавления ДНК с использованием прибора СК-2

На рис. 1а показана кривая изменения относительной теплоемкости, характеризующая плавление ДНК селе-

зенки крупного рогатого скота. Форма кривой аналогична дифференциальной кривой плавления ДНК тиму-



Институт молекулярной биологии и биофизики
Академии наук СССР

са теленка, полученной оптическим способом [1]. На калориметрической кривой можно выделить четкие максимумы, которые, однако, не должны ассоциироваться с классическими индивидуальными подпереходами, соответствующими скачкообразному выплавлению отдельных петель [5]. Пики, наблюдаемые на профиле кривой плавления, на рис. 1а имеют ширину не менее нескольких градусов и на порядок превышают ширину индивидуальных подпереходов [14]. Можно предполагать, что эти максимумы отражают аддитивный эффект плавления повторяющихся последовательностей, налагающийся на фон плавления уникальных последовательностей [5]. Это предположение согласуется с фактом существования в геноме теленка следующих классов нуклеотидных последовательностей: уникальные последовательности, последовательности со средней кратностью повторов, небольшие последовательности с высокой кратностью повторов и палиндромы [6]. Данное разбиение на классы отражает факт существования вдоль цепи молекулы ДНК блоков с преимущественным содержанием АТ- или GC-пар. Вместе с тем температура плавления полинуклеотидов настолько чувствительна к нуклеотидному составу, что даже локальные флуктуации в X_{GC} приводят к появлению областей с различной температурой плавления. Если выплавляющиеся области не слишком коротки [11], то максимумы кривой плавления ДНК на рис. 1а соответствуют плавлению участков нуклеотидной последовательности с относительным содержанием GC-пар: 0,39; 0,47; 0,59; 0,63 и 0,72. Это указывает на заметную внутримолекулярную гетерогенность ДНК селезенки, носящую ярко выраженный дискретный характер. Гетерогенность по составу наблюдается и в ряде других случаев (например, в случае плавления ядерного генома [3]), однако распределение при этом не носит дискретного характера, вследствие значительного перекрывания различных участков генома по составу [3]. Из рис. 1а видно, что кривая плавления ДНК может быть разложена на пять пиков по числу

максимумов на кривой плавления, описывающих конформационные переходы с различной термостабильностью. Разложение кривых проводилось на приборе СК-2. Данное разложение оказывается весьма эффективным для анализа нарушений в структуре ДНК, вызываемых предварительным нагревом. Как видно из рис. 1б—1г, по мере увеличения температуры предварительного нагрева наблюдается последовательное уменьшение отдельных пиков, вплоть до их полного исчезновения. Надо отметить, что критическая температура предварительного нагрева, после которой данный пик уже не выявляется, соответствует концу температурного интервала соответствующего пика. Это указывает на необратимое в данных условиях расплетание цепей ДНК в дискретных доменах, ответственных за данный пик. Ренатурация таких локально расплетенных участков, судя по всему, не происходит, вследствие достаточно быстрого снижения температуры после предварительного нагрева. Эффект образования шпилек и участков с несовершенным спариванием при охлаждении скорее всего также мал, ибо в противоположном случае наблюдалось бы значительное уширение отдельных пиков при вторичном плавлении [13]. Вместе с тем надо обратить внимание на неизменность положения отдельных пиков на температурной оси, что косвенно свидетельствует как о квазислучайном распределении пар в пределах каждого домена, так и о полной идентичности структуры доменов, ответственных за данный пик. Исходя из полного сходства первого и пятого пиков, можно предположить, что соответствующие им домены отличаются только по GC-составу.

На рис. 2 изображена диаграмма, на которой представлены температурные интервалы плавления, соответствующие отдельным пикам. Исходя из расположения этих температурных интервалов можно выделить пять характерных температурных областей: первая и пятая области соответствуют неперекрывающимся интервалам, вторая область, в которой перекрывава-

ются два температурных интервала, третья — где перекрываются три интервала и четвертая (выделена на рис. 2 стрелками), в которой перекрываются четыре интервала. Надо отметить, что все пять максимумов на кривой плавления сконцентрированы в трех средних областях. К наи-

ставу, но и их слияние. И действительно, как видно из табл. 1, энтальпия плавления ДНК наиболее резко снижается после предварительного нагрева до температур, лежащих именно в этой области. Анализ изменения энтальпии отдельных пиков показывает, что энтальпия третьего, чет-

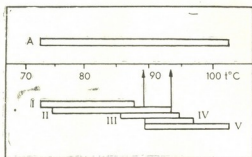


Рис. 2. Диаграмма, отражающая расположение интервалов плавления нативной ДНК (А) и простых пиков, полученных разложением исходной кривой (I — V), на температурной оси. Стрелками выделена область перекрывания максимального числа интервалов

более существенным изменениям в структуре ДНК должен приводить предварительный нагрев до температур, лежащих в четвертой области, так как именно в этой температурной области, где перекрывается наибольшее количество интервалов, должно происходить не только выплавление различных участков ДНК, дифференцированных по нуклеотидному со-

вертого и пятого пиков весьма слабо изменяется вплоть до четвертой температурной области, в то время как энтальпия первых двух пиков чувствительна уже к начальным стадиям предварительного нагрева. Это дает основание предполагать, что выплавление участков молекулы, соответствующих первым двум пикам, происходит, в какой-то степени, неза-

Таблица 1

Значения энтальпии плавления ДНК и составляющих простых пиков в зависимости от температуры предварительного нагрева

Пик	Энтальпия плавления в ккал/моль пар оснований						
	Температура предварительного нагрева						
	—	82 °C	84 °C	88 °C	90 °C	93 °C	94 °C
Общий	7,9	6,2	5,9	3,8	1,4	0,8	0,5
I	0,5	0,2	—	—	—	—	—
II	4,6	3,8	3,5	2,0	0,2	—	—
III	1,4	1,1	1,1	0,6	0,3	0,1	0,1
IV	0,6	0,5	0,6	0,6	0,4	0,2	0,3
V	0,6	0,6	0,6	0,6	0,5	0,5	0,1

Средняя погрешность в определении энтальпии не превышает 10%.



ვისიმო от остальных. Обращает на себя внимание тот факт, что энтальпия пятого пика остается практически неизменной даже при очень высоких температурах предварительного нагрева. Возможно, этот пик отражает плавление так называемых «ГС-ядер» [7], препятствующих полному расхождению цепей вплоть до окончания процесса плавления. Подтверждением может служить то, что температурный интервал пятого пика совпадает с температурой исчезновения гипохромного эффекта.

Результаты данной работы подтверждают, что резистентность отдельных участков молекулы ДНК к температурному воздействию существенно различна и определяется локализацией доменов, резко различающихся по нуклеотидному составу. Дискретно расположенные вдоль мо-

лекулы ДНК домены с идентичным нуклеотидным составом выпадают в одном и том же температурном интервале. Вместе с тем ряд таких факторов, как близость к концу молекулы, специфическое окружение на границах домена, число идентичных доменов и др., приводит к расширению температурного интервала каждого пика до величины нескольких градусов, значительному превышению ширины индивидуального подпериода. Таким образом, процесс денатурации ДНК не является процессом типа «все или ничего», а проходит через ряд промежуточных состояний, характеризующихся при каждой данной температуре определенным распределением денатурированных областей, что согласуется с данными гидродинамических и оптических исследований [4].

ЛИТЕРАТУРА

1. Любченко Ю. Л., Вологодский А. В., Франк-Каменецкий М. Д., Лазуркин Ю. С., Гаузе Г. Г. В сб.: Конформационные изменения биополимеров в растворе, «Мецниереба», Тбилиси, 1975, 61—70.
2. Мандель М., Мармур Дж. Методы исследования нуклеиновых кислот, «Мир», М., 1970, 183—192.
3. Шугалий А. В., Герман А. В., Митрохин Ю. И., Тодоров И. Н. В сб.: Конформационные изменения биополимеров в растворе, «Мецниереба», Тбилиси, 1975, 84—89.
4. Шугалий А. В., Франк-Каменецкий М. Д., Лазуркин Ю. С. Мол. биология, 3, 133—141, 1969.
5. Blake R. D., Lefoley S. G. Biochem. et Biophys. Acta, 518, 233—246, 1978.
6. Davidson E., Britten R. Quant. Rev. Biol. 48, 565—577, 1973.
7. Geidushek E. J. Mol. Biol., 4, 467—487, 1962.
8. Hoff A. J., Ross A. L. Biopolymers, 11, 1289—1294, 1972.
9. Inman R., Baldwin R. J. Mol. Biol., 8, 452—460, 1964.
10. Marmur J. J. Mol. Biol., 3, 208—214, 1961.
11. Marmur J., Doty P. J. Mol. Biol., 5, 109—121, 1962.
12. Marmur J., Rownd R., Schildkraut C. Progr. Nucleic Acid Res., 2, 231—242, 1963.
13. Steiner R. F., Beers R. F. In: Polynucleotides. American Elsevier, New-York, 214—226, 1961.
14. Yen W. S., Blake R. D. Biopolymers, 19, 681—700, 1980.

სითბური ფაქტორის გავლენა დნმ-ის კონფორმაციულ გადასვლებზე

ლ. ვისოჩაკი, ვ. ბერასიმოვი, ზ. ბატაზვილი, ა. წილოსანი

საქართველოს მეცნიერებათა აკადემიის მოლეკულური ბიოლოგიისა და ბიოლოგიური ფიზიკის ინსტიტუტი, თბილისი

რ ე ზ ი უ მ ე

კალორიმეტრიული მეთოდის გამოყენებით შესწავლილია წინასწარი გათბობის ტემპერატურის გავლენა ეუკარიოტუ-

ლი დნმ-ის სითბურ დენატურაციაზე. ჩვენებია, რომ მოცემულ პირობებში კონფორმაციულ გადასვლას დნმ-ში აქვს



რთული, მრავალსტადიური ხასიათი და იგი მნიშვნელოვნად არის დამოკიდებული წინასწარი გათბობის ტემპერატურაზე. ჩატარებულია მიღებული მრუდების დაშლა

მარტივ შემადგენელ ნაწილებად და ნაწი-
ვენება ამ დაშლის გამოსადეგად. აღნიშნული შედეგების ანალიზისათვის.

INFLUENCE OF THERMAL FACTOR ON CONFORMATIONAL TRANSITIONS IN DNA

L. M. VYSOCHEK, V. V. GERASIMOV, G. R. GETASHVILI, M. Z. TSILOSANI

Institute of Molecular Biology and Biological Physics,
Georgian Academy of Sciences, Tbilisi

S u m m a r y

The effect of preheating temperature on DNA melting has been studied by the method of microcalorimetry. The conformational transition in DNA was shown to be of complicated and polyphasic nature and much dependent on the preheat-

ing temperature. The melting curves have been separated into distinct peaks and validity of such a procedure for experimental data analysis has been demonstrated.

Известия АН Грузии, серия биологическая
(на грузинском, русском и английском языках)

Корректор Д. Р. Арчвадзе

Сдано в набор 27.03.91; Подписано в печать 4.04.91.
Формат бумаги 70×108¹/₁₆. Бумага № 1. Высокая печать
6,7 усл.-печ. л. 7,23 кр.-отт. 5,5 уч.-изд. л.
Тираж 1000 экз. Заказ 668. Цена 1 руб.

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

საქართველოს მეცნიერებათა აკადემიის სტამბა, თბილისი, 380060, კუტუზოვის ქ. 19
Типография АН Грузии, Тбилиси, 380060, ул. Кутузова, 19

Цена 1 руб.

680/40

Индекс 76204



ISSN - 0321-1665 Изв.АН Грузии, сер.биологическая, 1991, т.17, №2, 73-144