

84-3  
992



საქართველოს მეცნიერებათა აკადემიის მაცნე  
ИЗВЕСТИЯ АКАДЕМИИ НАУК ГРУЗИИ  
PROCEEDINGS OF THE ACADEMY OF SCIENCES  
OF GEORGIA

ბიოლოგიის  
სერია  
СЕРИЯ  
БИОЛОГИЧЕСКАЯ

1992 N5

თბილისი - თბილისი  
- ТБИЛИСИ - ТОМ  
ТБИЛИСИ - VOL.

18

## დაკავების ნუსხა

თეორიული ბიოლოგია  
ადამიანთა და ცხოველთა ფიზიოლოგია  
(ნორმალური და პათოლოგიური)  
მორფოლოგია  
ანატომია  
ემბრიოლოგია და ჰისტოლოგია  
ციტოლოგია  
პათოლოგიური მორფოლოგია  
ბიოქიმია  
ფარმაკოლოგია  
გოტანიკა (ეკსპერ. და თეორ.)  
მცენარეთა ფიზიოლოგია  
ფლორა (ეკსპერ. და თეორ.)  
ენტომოლოგია  
პარაზიტოლოგია  
პელეონოლოგია  
პალეობიოლოგია  
ბიოგეოცენოლოგია  
ეკოლოგია  
მიკრობიოლოგია  
ვირუსოლოგია  
იმუნოლოგია  
გენეტიკა  
რადიობიოლოგია  
ბიოფიზიკა და მულტიპლური ბიოლოგია  
ბიონიკა და ბიოკომპიუტერბიკა

## СПИСОК РАЗДЕЛОВ БИОЛОГИИ ПО КОТОРЫМ ПРИНИМАЮТСЯ СТАТЬИ

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

# ბიოლოგიის სერია СЕРИЯ БИОЛОГИЧЕСКАЯ

ტომი 18, № 5  
Том

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

**სარედაქციო კოლეგია:**

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

ლ. გაბუნია, ი. ელიავა, მ. ზაალიშვილი, გ. თუმანიშვილი, გ. კვესიტაძე, კ. ნადარეიშვილი,  
ბ. ნანეიშვილი, გ. ნახუტრიშვილი, გ. სანაძე, ბ. ყურაშვილი, თ. ჭანიშვილი,  
ნ. ჯავახიშვილი  
პასუხისმგებელი მდივანი ს. ლაბაძე

**РЕДАКЦИОННАЯ КОЛЛЕГИЯ:**

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

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

Ответственный секретарь С. Р. Лабадзе

**EDITORIAL BOARD:**

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

T. Chanishvili, N. Djavakhishvili, L. Gabunia,  
G. Kvesitadze, B. Kurashvili, K. Nadareishvili, B. Naneishvili,  
G. Nakhutsrishvili, G. Sanadze, G. Tumanishvili, M. Zaalishvili, I. Eliava

Executive Secretary S. Labadze

© Известия АН Грузии  
Серия биологическая, 1992

რედაქციის მისამართი:

380060, თბილისი-60, კუტუზოვის ქ. 19,  
ტელ. 37-86-78

Адрес редакции:

380060, Тбилиси-60, ул. Кутузова, 19,  
тел. 37-86-78

Корректор Д. Р. Арчвадзе

Сдано в набор 26.08.99. Подписано в печать 27.11.92  
Формат бумаги 70×108<sup>1/16</sup>. Бумага № 1. Высокая печать.  
6,3 усл.-печ. л. 7,23 кр.-отт., 4,5 уч.-изд. л.  
Тираж 900 экз. Заказ 1002. Цена 2 руб.

---

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

---

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



СОДЕРЖАНИЕ — შიგნაკრძი — CONTENTS

- Н. А. Чучулашвили, Г. В. Абуладзе. Анализ проактивного влияния неизбавляемого и избавляемого электроболевого раздражения на выработку условного рефлекса двустороннего избегания 293
- ბ. ქუჭულაშვილი, გ. აბულაძე. ორმხრივი განრიდების პირობით რეულექსუ მტკივნეული ვალნიანების პროაქტიური გავლენის ანალიზი
- N. Chuchulashvili, G. Abuladze. Analysis of proactive influences of escapable or nonescapable painful electric stimulation on the aquisition of shuttle-box avoidance
- М. А. Дгебуадзе, З. И. Кацитадзе, Г. С. Данелия. К вопросу асимметрии внутриорганного кровеносного русла почки 298
- მ. დგებუაძე, ზ. კაციტაძე, გ. დანელია. თირკმლის ორგანოშიდა სისლ-ძარღვოვანი კალაბოტის ასიმეტრიის საკითხისათვის
- M. Dgebuadze, Z. Katsitadze, G. Danelia. About the assymetry of the intraorganical vascular bed of kidney
- Г. К. Гогичадзе, Ф. Г. Долидзе. Возникновение онкологических заболеваний при СПИДе и некоторые аспекты патогенеза данного состояния 301
- გ. გოგიაძე, თ. დოლიძე. შიდსის დროს ონკოლოგიური დაავადებების წარმოქმნა და იმუნოდეფიციტის პათოგენეზის ზოგიერთი ასპექტი
- G. Gogichadze, T. Dolidze. Rise of oncological diseases in AIDS and some aspects of pathogenesis of this state
- З. Г. Мгалоблишвили. Морфологические изменения коркового вещества надпочечников при гипокинезии. 306
- ზ. მგალობლიშვილი. თირკმელზედა ჯირკვლის ქერქოვანი ნივთიერების მორფოლოგიური ცვლილებები ჰიპოკინეზიის დროს
- Z. Mgaloblishvili. Morphological changes of adrenal gland cortical substance in hypokinesia
- М. Н. Яшвили, В. Р. Субелиани. К изучению тапетума пыльника 310
- მ. იაშვილი, ვ. სუბელიანი. მტერიანას ტაპეტუმის შესწავლისათვის
- M. Iashvili, V. Subeliani. On the study of anther tapetum
- Р. О. Соломония, С. О. Адамия, Д. Г. Микеладзе. Изменения связывания <sup>3</sup>H-глутамата с мембранами мозга цыплят после зрительно-го импринтинга 315
- რ. სოლომონია, ს. ადამია, დ. მიქელაძე. წიწილების თავის ტვინის მემბრანებთან <sup>3</sup>H-გლუტამატის დაკავშირების ცვლილებანი მხედველობითი იმპრინტინგის შემდეგ
- R. Solomonia, S. Adamia, D. Mikeladze. Changes in <sup>3</sup>H-glutamate binding with membranes of the chick brain after visual imprinting
- М. И. Балашвили, М. Ш. Гордезиани, Г. А. Хатисашвили, Р. К. Папелишвили, Д. И. Джохадзе. Устранение ингибирующего эффекта ксенобиотиков, путем ускорения их гидроксилирования, на белок- и РНК-синтезирующую активность растений 324
- მ. ბალაშვილი, მ. გორდეზიანი, გ. ხატისაშვილი, რ. პაპელიშვილი, დ. ჯოხაძე. მცენარეებში ცილა-და რნმ-მასინთეზირებელ აქტიობაზე ქსენობიოტიკების მაინიბირებელი ეფექტის აცილება მათი დეაქსიგენის გზით
- M. Balashvili, M. Gordeziani, G. Khatishvili, R. Papelishvili, D. Jokhadze. Removal of xenobiotic inhibitory effect by acceleration of their hydroxylation on protein and RNA-synthesizing activity in plants

Д. В. Дзидзигури, П. В. Челидзе, М. А. Зарандия, Е. О. Черкезия, Г. Д. Туманишвили. Транскрипционная активность и ультраструктура морфологически различных типов ядрышек, изолированных из гепатоцитов нормальных и гепатэктомированных крыс . . . 330

დ. ძიძიგური, პ. ჭელიძე, მ. ზარანდია, ე. იერქეზია, გ. თუშანიშვილი. ნორმალური დე ჰეპატექტომირებული ვირთავეების ჰეპატოციტებიდან იზოლირებული მორფოლოგიურად განსხვავებული ტიპების ბირთვების ულტრასტრუქტურა და ტრანსკრიპციული აქტიობა

D. V. Dzidziguri, P. V. Chelidze, M. A. Zarandia, E. O. Cherkezia, G. D. Tumanishvili. The transcription activity and ultrastructure of morphologically different types of nucleoli isolated from normal and hepatectomized rat hepatocytes.

К. Ш. Куридзе, С. О. Симоишвили, М. Ш. Симоидзе, М. М. Заалишвили. Взаимодействие модифицированного  $\alpha$ -актинина с актином . . . 336

კ. ჭურიძე, ს. სიმონიშვილი, მ. სიმონიძე, მ. ზაალიშვილი. მოდიფიცირებული  $\alpha$ -აქტინინის ურთიერთქმედება აქტინთან

K. Kuridze, S. Simonishvili, M. Simonidze, M. Zaalishvili. Interaction of modified  $\alpha$ -actinin with actin

Э. Н. Кецховели, И. П. Сихарулидзе, М. Н. Гигинейшвили, И. В. Чичиашвили, М. Д. Сарадзева, М. Г. Кватадзе. Влияние эндосперма на содержание пластидных и внепластидных пигментов и рост проростков кукурузы . . . 341

ე. ი. კეცხოველი, ი. პ. სიხარულიძე, მ. ნ. გიგინეიშვილი, ი. ვ. ჭიჭიასვილი, მ. დ. სარადევა, მ. გ. კვათადე. ენდოსპერმის გავლენა სიმინდის აღმონაცენის პლასტიდური და არაპლასტიდური პიგმენტების შემცველობაზე და ზრდის პროცესებზე

E. Ketskhoveli, I. Sikharulidze, M. Gigineishvili, I. Chichiashvili, M. Sarajeva, M. Kvatadze. The effect of endosperm on the content of plastid and nonplastid pigments and growth processes in the maize sprouts

Л. К. Габуния, К. И. Чочиева. Сопряженная эволюция растительности и позвоночных Грузии в позднем кайнозое . . . 347

ლ. გაბუნია, კ. ი. ჩოჩიევა. საქართველოს მცენარეულობისა და ხერხემლიან ცხოველთა თანაგვოლუცია გვიან კაინოზოურში

L. Gabunia, K. Chochieva. Conjugated evolution of vegetation and vertebrates of Georgia in late cenozoic

Э. О. Хачапуридзе, Н. П. Чантурия, А. Н. Милорава, К. Н. Гвиашвили, Г. Я. Дараселия. Изучение параметров роста и развития Rhodococcus sp-44 в периодической культуре . . . 355

ე. ი. ხაჩაპურიძე, ნ. პ. ჩანტურია, ა. ნ. მილორავა, კ. ნ. გვიანიშვილი, გ. დარასელია. ზრდა-განვითარების მახასიათებელი პარამეტრების შესწავლა Rhodococcus sp-44 პერიოდულ კულტურაში.

E. Khachapuridze, N. Chanturia, A. Milorava, K. Gviashvili, G. Daraselia. Study of cultivation and development characteristic parameters in Rhodococcus sp-44 periodical culture

УДК 612.821.6

ФИЗИОЛОГИЯ ЧЕЛОВЕКА И ЖИВОТНЫХ

## АНАЛИЗ ПРОАКТИВНОГО ВЛИЯНИЯ НЕИЗБАВЛЯЕМОГО И ИЗБАВЛЯЕМОГО ЭЛЕКТРОБОЛЕВОГО РАЗДРАЖЕНИЯ НА ВЫРАБОТКУ УСЛОВНОГО РЕФЛЕКСА ДВУСТОРОННЕГО ИЗБЕГАНИЯ

Н. А. Чучулашвили, Г. В. Абуладзе

*Институт фармакохимии им. И. Г. Кутателадзе АН Грузии*

Поступила в редакцию 20.03.91

В опытах на крысах изучено влияние предварительной электроболевого стимуляции в избавляемом и неизбавляемом режимах на формирование и воспроизведение отдельных компонентов условного рефлекса двустороннего избегания. Показано, что ухудшение приобретения условной реакции избегания после предварительной электроболевого стимуляции является не только следствием нарушения реакции избавления. Одним из показателей депрессивноподобного состояния животных при «выработанной беспомощности» является самостоятельное нарушение воспроизведения условной реакции избегания.

Для анализа нейрохимических и поведенческих компонентов депрессивноподобных состояний в последнее время началось использование «выработанной беспомощности» животных. Этим термином обозначается пассивность, возникающая после нанесения электроболевого раздражения в неизбавляемом режиме [7]. Прием получения сдвигов, характерных для «выработанной беспомощности», является подача электрического раздражения паре животных, одно из которых контролирует стимуляцию и может влиять на ее начало, окончание и длительность, а другое лишено этой возможности. Показано, что именно у последнего в дальней-

шем возникает депрессивноподобное состояние, сопровождающееся значительным нарушением поведения [6]. Ослабление приобретения активн оборонительных навыков проявляется у разных видов животных и у людей, не контролирующей ситуацию при стрессовых нагрузках [4, 5, 8]. Однако не вполне ясно, с какими звеньями целостного поведения связаны обнаруживаемые нарушения. Решение же этого вопроса важно как для понимания механизмов становления и проявления депрессивноподобных состояний, так и для трактовки результатов фармакологических вмешательств в эти состояния.

### МЕТОДИКА

Опыты проводились на 54 крысах, разделенных на три группы (по 18 особей в каждой). Установка для электроболевого престоимия животных состояла из камеры с двумя одинаковыми отделениями, размером  $40 \times 20 \times 40$  см, имеющими общий электрофицированный пол. В одном

из отделений на расстоянии 50 мм от пола помещался рычаг, нажатием которого животное могло прекращать подачу электрического тока на пол камеры обеих отделений. В камеру животные помещались парами и одновременно получали электрическое раздражение одинаковой длительности-

сти и интенсивности (1,5 мА) в течение 1 ч три дня подряд. Животные, которым была предоставлена возможность нажатием рычага избавляться от тока и одновременно выключать стимуляцию другой особи, составили I группу («избавляющаяся» группа). Их напарники, лишённые такой возможности, но получающие точно такой объём электроболевого раздражения, составили II группу («беспомощная» группа). Животные III группы (контрольной) обрабатывались так же, но без нанесения тока. Через три дня после последнего сеанса предобработки у всех животных вырабатывали условный рефлекс двустороннего избегания (УРДИ). УРДИ вырабатывали в челночной камере в течение трех дней (по 40 сочетаний ежедневно). В качестве условного стимула (УС) использовали ток (2 кГц, 80 дБ), а безусловного (БС) — серию

прямоугольных импульсов (60 имп/с, 2 мс, 0,75 — 1 мА). Силу тока подбирали таким образом, чтобы контрольные животные осуществляли четкую реакцию избегания. Интервал между УС и БС составлял 5 с. В течение этого времени животному предоставлялась возможность избежать УС переходом на противоположную половину камеры, что считалось правильным ответом. УС выключался сразу по осуществлении реакции избегания. При отсутствии последней УС и БС предъявлялись дополнительно в течение 3 с. Критерием выработки рефлекса считали наличие 9 правильных ответов из 10. Подробнее методика выработки УРДИ описана ранее [1]. Данные обрабатывались статическими методами по программам, реализованными на ЭВМ Мера-60.

## РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

Наши опыты показали, что электроблевая предобработка вызывает нарушение УРДИ, вырабатываемого три дня спустя. Нарушение рефлекса было более глубоким у «беспомощных» (группа II) животных. В этой группе только у 28% крыс вырабатывался стойкий рефлекс избегания, тогда как в контрольной группе критерия научения достигли 78% крыс, а в группе I — 50% крыс. При сравнительном анализе влияния предвараительного электроболевого раздражения в избавляемом и неизбавляемом режимах на последующее формирование отдельных компонентов рефлекса оказалось, что указанное нарушение в первую очередь возникает за счет ухудшения формирования реакции избегания. 44% животных группы II не смогли выполнить реакцию избегания в первый день выработки рефлекса, поэтому дальнейшее обучение этих животных прекращалось и их данные не учитывались при рассмотрении динамики измерения латентного периода (ЛП) избегания и избегания. У животных I группы и оставшихся животных II группы ЛП избегания в течение 1—5 сочетаний был практически одинаково увеличен по сравнению с контролем ( $p < 0,01$ ) — рис. 1, А. Далее реакция избегания в

обеих группах нормализовалась (рис. 1, Б) и в течение всего периода обусловливания различие между животными опытных и контрольных групп по ЛП избегания отсутствовало (рис. 1, В, Г).

Многие авторы рассматривают постстрессорное ухудшение реакции избегания как показатель депрессивноподобного состояния животных, вызванного отсутствием возможности избегания от наказания при стрессировании [2, 3, 7]. Действительно, и по нашим данным полное нарушение реакции избегания у части животных наблюдалось только в «беспомощной» группе. Однако без рассмотрения других компонентов избегающего поведения нельзя считать, что у остальных животных этой группы неконтролируемая стресс-ситуация не привела к развитию депрессивноподобного состояния.

Как обнаружилось в наших опытах, различия в эффектах избавляемой и неизбавляемой престаимуляции выявляются и в приобретении условной реакции избегания. Хотя формирование и воспроизведение УРДИ было ухудшено в обеих опытных группах, эти нарушения наиболее четко были выражены у «беспомощных» животных. Они отличались ( $p < 0,01$ )

от животных I и III группы количеством правильных ответов (рис. 2), числом животных, достигших критерия, и динамикой приобретения УРДИ.

I первые правильные условные реакции избегания наблюдались между 25—30 сочетаний. При этом различие между группами наиболее четко про-

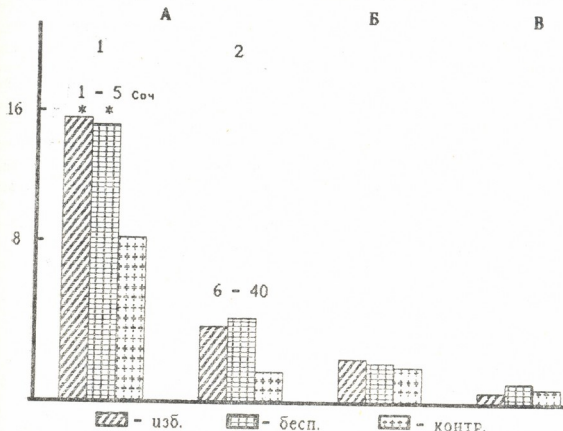


Рис. 1. Проактивное влияние электроболевого престоимуляции на реакцию избегания при выработке УРДИ: А — ЛП избегания у животных I, II и III групп в первый день выработки рефлекса при 1—5 сочетаниях (1) и 6—40 сочетаниях (2); Б — то же при 45—80 сочетаниях; В — то же при 85—120 сочетаниях. По оси ординат—ЛП избегания в с; \*—отличие от контрольных животных ( $p < 0.02$ )

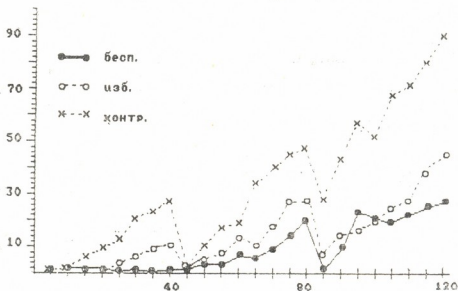


Рис. 2. Проактивное влияние электроболевого престоимуляции на приобретение условной реакции избегания: По оси абсцисс — сочетания; по оси ординат — процент правильных ответов

В «беспомощной» группе правильные ответы не проявлялись в течение 1—45 сочетаний, тогда как в группе

являлось на том этапе обучения (рис. 2), когда по ЛП избегания между ними разница отсутствовала.



При отдельном рассмотрении динамики приобретения УРДИ у животных групп I и II, достигших критерия научения, оказалось, что «беспомощные» животные и в этом случае отстают от других крыс — как на этапе формирования, так и на этапе упрочения рефлекса, т. е. у «беспомощных» крыс задержано возникновение первых правильных реакций избегания, а на этапе упрочения рефлекса ухудшена регулярность воспроизведения правильных ответов избегания.

Таким образом, предварительное нанесение неизбежаемого электролевого раздражения резко нарушает

формирование и воспроизведение реакции избегания и в тех случаях, когда избавление не страдает, что дает право заключить, что реакция избегания нарушается не только как следствие ухудшения реакции избавления, а является звеном оборонительного поведения, непосредственно подверженным проактивному влиянию неизбежаемого электролевого раздражения. Это заключение способствует пониманию механизмов нормализации антидепрессантами [3] целостного активнооборонительного поведения, нарушенного «выработанной беспомощностью».

## ЛИТЕРАТУРА

1. Абуладзе Г. В., Чучулашвили Н. А. Сердце, активное избегание и эмоции, «Мецниереба», Тбилиси, 1980.
2. Русаков Д. Ю. Динамика поведенческой и нейрохимической реактивности при хроническом введении антидепрессантов, Канд. дисс., М., 1984.
3. Хоничева Н. М., Данчев Н. А. ЖВНД, 35, 2, 339—347, 1985.
4. Anisman H., Waller T. G. J. Behav. Biol., 9, 331—355, 1973.
5. Bruto V., Anisman H. Behav. and Neurol Biol., 37, 302—316, 1983.
6. Maier St F. Psychopharmacol. Bull., 3, 531—536, 1983.
7. Seligman M. E. P., Beagley S. P. J. Compar. and Physiol. Psychol., 88, 2, 534—551, 1975.
8. Weiss J. M., Goodman P. R., Iosito B. G., Corrigan S., Cherry J. M., Bailey W. H. Brain Res. Rev., 3, 167—205, 1981.

## ორმხრივი განრიღების პირობით რეფლექსზე მტკიცემული გალიზიანების კრომატიური გავლენის ანალიზი

### ბ. ზუზულაშვილი, ბ. აბულაძე

საქართველოს რესპუბლიკის მეცნიერებათა აკადემიის ი. ქუთათელაძის სახელობის ფარმაცოქიმიის ინსტიტუტი, თბილისი

### რ ე ზ ი უ მ ე

შესწავლილია წინასწარი მტკიცენული გალიზიანების გავლენა ორმხრივი განრიღების პირობითი რეფლექსის ცალკეული კომპონენტების ფორმირებასა და ახწარმოებაზე. ნაჩვენებია, რომ წინასწარი მტკიცენული სტიმულაციის შემდეგ განრიღების პირობითი რეაქციის გამომუშავების

გაუარესება არ არის გამოწვეული მხოლოდ აცილების რეაქციის დარღვევით. გამოთქმულია მოსაზრება, რომ ცხოველებში „გამომუშავებული უსუსურობის“ დროს დებარების მსგავსი მდგომარეობის ერთ-ერთი მაჩვენებელია პირობითი განრიღების რეაქციის დარღვევა.

# ANALYSIS OF PROACTIVE INFLUENCES OF ESCAPABLE OR NONESCAPABLE PAINFUL ELECTRIC STIMULATION ON THE ACQUISITION OF SHUTTLE-BOX AVOIDANCE

N. CHUCHULASHVILI, G. ABULADZE

I. Kutateladze Institute of Pharmacochimistry, Academy of Sciences of Georgian Republic, Tbilisi

## S u m m a r y

In the researches in the rat the influence of preexposure escapable or nonescapable painful electrical stimulation on the shuttle — box avoidance was studied. It is shown that poor acquisition conditioning active avoidance reaction after preexposure nonescapable punishment electrical

stimulation consequences are not due only to disturbance of the escape reaction. There is the suggestion that one of the index of depressed condition of the animals with "learned helplessness" is the disturbing of the formation of conditioning avoidance reaction.

შპა 611.13.16:616—61

სნატომია

## თირკმლის ორგანოსშიდა სისხლძარღვოვანი კალაქოტის ასიმეტრიის საკითხისათვის

მ. ღებუაძე, ზ. კაციტაძე, ბ. ღანელია

თბილისის სახელმწიფო სამედიცინო ინსტიტუტი

შემოსული რედაქციაში 23.05.91

სექციურ მასალაზე შესწავლილია თირკმლის მიკროსისხლძარღვების ასიმეტრიის საკითხი ინექციური, ანატომიური პრეპარირების და ჰისტოლოგიური მეთოდების გამოყენებით. ნაჩვენებია, რომ ასიმეტრია ძირითადად აღინიშნება თირკმლის მსხვილი სისხლის ძარღვების დონეზე, ხოლო მიკროსისხლძარღვების აგებულებაში შეიმჩნევა უმნიშვნელო განსხვავება, რაც დაკავშირებულია სეგმენტური არტერიების ორგანოსშიდა დატოტიანების ასიმეტრიასთან.

მიუხედავად იმისა, რომ ადამიანის ორგანიზმის აგებულების სიმეტრიისა და ასიმეტრიის შესახებ თავის აზრს გამოთქვამდა ყველა დროის მეცნიერი [1], დღესაც დიდია ამ საკითხის როგორც თეორიული, ისე პრაქტიკული მნიშვნელობა. [3]. განსაკუთრებით საინტერესოა სისხლძარღვოვანი სისტემის ასიმეტრიის შესწავლა, რადგან მიღებული მონაცემები შეიძლება გამოყენებულ იქნეს ცალკეული ორგანოს თუ ორგანოთა სისტემების ფუნ-

ქციის შემცველი ხელოვნური აპარატების კლინიკაში დანერგვისას [2].

თირკმელს მაკროსკოპული ანატომიის მიხედვით მიაკუთვნებენ ასიმეტრიულ ორგანოს. მისი სისხლის ძარღვების ორგანოსგარეთა ნაწილი და მათი მსხვილი განშტოებანი ამ თვალსაზრისით კარგად არის შესწავლილი [4, 5]. მაგრამ ლიტერატურაში არ არის მონაცემები თირკმლის მიკროსისხლძარღვების ასიმეტრიის შესახებ. წინამდებარე ნაშრომის მიზანი იყო სწორედ ამ საკითხის შესწავლა.

### მასალა და მეთოდი

შესწავლილი იყო პრაქტიკულად ჯანმრთელი 61—74 წლის ასაკის მამაკაცების მარჯვენა და მარცხენა თირკმლები (სექციური მასალა — 20 თირკმელი). გამოყენებული იყო ანატომიური პრეპარირების, სისხლძარღვთა ინექციისა და ჰისტო-

ლოგიური მეთოდები. თირკმლის ნაჭრებს გამოსაკვლევად ვილებდით მისი ზედა სეგმენტებიდან. ერთმანეთს ვადარებდით ორივე მხარის თირკმლების გამოკვლევის შედეგებს.

### კვლევის შედეგები და მათი განხილვა

ჩვენს მიერ გამოკვლეულ თითქმის ყველა შემთხვევაში როგორც მარჯვნივ, ისე მარცხნივ თირკმლის კარში, წინიდან უკან, კლასიკური სქემის შესაბამისად, თირკმლის ვენა, თირკმლის არტერია და თირკმლის მენჯი (ან შარდსაწვეთი) იყო

განლაგებული. მხოლოდ 1 მარცხენა თირკმელზე აღინიშნა თირკმლის არტერიის ვენტრალური, თირკმლის მენჯის დორსალური მდებარეობა, მათ შორის კი მოთავსებული იყო თირკმლის ვენა (დამატებითი არტერიით სისხლმომარაგების

შემთხვევები ამ შრომაში არ არის ნოტა-ნილი).

თირკმლის არტერია ყველა შემთხვევაში იყოფოდა 2 ზონალურ არტერიად. ძირითადად აღინიშნა წინა და უკანა ზონალური არტერიები, მხოლოდ 2 შემთხვევაში ადგილი ჰქონდა თირკმლის არტერიის ზედა და ქვედა პირველი რივის არტერიებზე დაყოფას, ამასთან, ორივე თირკმელი იყო მარჯვენა.

ზედა სეგმენტური არტერია, რომელიც ამარაგებს სისხლით ზედა სეგმენტს, დასაბამს იღებს თირკმლის არტერიის წინა ტოტიდან, ხოლო ზედა და ქვედა ზონალურ არტერიებზე თირკმლის არტერიის დაყოფის შემთხვევაში — ზედა ზონალური არტერიიდან.

ზედა სეგმენტიდან აღებული თირკმლის ნაჭრების მორფოლოგიურმა შესწავლამ გვიჩვენა, რომ 61—74 წლის ასაკის მამაკაცების როგორც მარჯვენა, ისე მარცხენა თირკმლის მიკროცირკულაციის კალაპოტში აღინიშნება მნიშვნელოვანი ასაკობრივი ცვლილებები. მხედველობის ველში გორგლები მცირე რაოდენობითაა. მათი კონტურები მკაფიოდ არ არის გამოხატული, გვხვდება ნაწილობრივ ან მთლიანად ჰიალინიზირებული გორგლები. ქერქოვან ნივთიერებაში პერიტუბულური კაპილარები დაკლაკნილია, მათი რაოდე-

ნობა შემცირებულია როგორც ქერქოვან, ასევე ტვინოვან ნივთიერებაში. რაც შეეხება დაწინააღმდეგე არტერიებში ელასტიური მემბრანების რაოდენობა მომატებულია, ალაგ-ალაგ ადგილი აქვს შიგნითა ელასტიური მემბრანის გახლეჩას. სისხლძარღვთა კედლის განვლადობა მომატებულია, ზოგან აღინიშნება მათი თრომბოზი და ჰიალინოზი. რეტეკულური ბოჭკოები გატლანქებულია. ერთეულ შემთხვევებში აღინიშნა მარჯვენა და მარცხენა თირკმლის მიკროსისხლძარღვების უმნიშვნელო ასიმეტრია, რაც გამოიხატა გორგლების მეტი ან ნაკლები რაოდენობით, მეტი ან ნაკლები სისწირის კაპილარული ბადის არსებობით.

ამრიგად, მარჯვენა და მარცხენა თირკმლის გამოკვლევის შედეგების შედარებამ გვიჩვენა, რომ თირკმლის სისხლძარღვების ასიმეტრიას ადგილი აქვს უპირატესად მათი მსხვილი ტოტების დონეზე. რაც შეეხება თირკმლის მიკროსისხლძარღვებს, მათი აგებულება ორივე თირკმელში თითქმის იდენტურია; ერთეულ შემთხვევებში აღინიშნული განსხვავება დაკავშირებულია სეგმენტური არტერიების ორგანოსშიდა დატოტიანების ასიმეტრიასთან, მათი სუბსეგმენტურ არტერიებზე დაყოფის სხვადასხვა ვარიანტების არსებობასთან.

## ЛИТЕРАТУРА

1. Дороницева В. М., Лебедева Е. Г., Монсеева Н. И., Поздеев Д. А. Оценка наследия Абу Али Ибн Сины в области физических упражнений, Ташкент, 1982, 90—92.
2. Желобцев П. М. Тез. докл. 6-го симпозиума «Бнол. пробл. Севера», Якутск, 8, 1974, 239—241.

3. Сапин М. Р., Сатюкова Г. С. Арх. анатом., гистол. и эмбриологии, 71, 10, 94—103, 1976.
4. Хайдова Р. Варианты кровоснабжения почек в связи с их зональным, сегментарным и субсегментарным строением. Автореф. канд. дисс., Ашхабад, 1975.
5. Aubert J., Koumarg K. Akt. Urol., 7, 3, 189—190, 1976.

## კ ვიკრუსუ ასიმეტრიი ვნუტრიორგანოგო კრვენოსნოგო რუსლა კოჩკი

მ. ა. დგებუაძე, ზ. ი. კაციტაძე, გ. ს. დანელია

თბილესკიი გოსუდარესვენსკიი მედიცინსკიი ინსტიტუტ

### რეზუმე

ნა სექციონნო მატერიალე იუჯენ ვოპროს ასიმეტრიი კოჩკნის მიკროსოსუდოვ. პრემენიასი ინექციონნის და გისტოლოჯიკესკის მეთოდიკი, ა თაკვე მეთოდ ანატომიკესკი პრეპარიროვკი. უსტანოვლენო, კო ასიმეტრია კრვენოსნაბჟენია პრავოი და ლეოვი კოჩკი ოტ-

მეჩაესა ნა ურენე კრუნის ვოსუდოვ. სტროენი მიკროსოსუდოვ პრავოი და ლეოვი კოჩკი კოჩკი იდენტისკი; ნეზნაჩიტელნის რაზლიჩია, კოტორეს ნაბლუდალსა ვედიჩისკის სლუკაია, სვიაზანი ს რაზნის ვარიანტამი დელენია სეგმენტარნის არტერიის ნა სუბსეგმენტარნის ვეტვი.

## ABOUT THE ASSIMETRY OF THE INTRAORGANICAL VASCULAR BED OF KIDNEY

M. DGEBUADZE, Z. KATSITADZE, G. DANELIA

Tbilisi State Medical Institute

### S u m m a r y

On the basis of the large section data authors have studied the problem of assimetry of the vessels of kidney. They have used the methods of injections, histology and anatomical preparations.

It was shown that the assimetry of the bloodflow of the right and left kidneys, was noted on the level of the

large blood vessels. The structure of small vessels of the right and left kidney was almost identical and some differences, which were observed in rare cases were allied with the variation of the division of the segmental arteries into subsegmental branches.



УДК 616—006.442.2

ЦИТОЛОГИЯ

## ВОЗНИКНОВЕНИЕ ОНКОЛОГИЧЕСКИХ ЗАБОЛЕВАНИЙ ПРИ СПИДЕ И НЕКОТОРЫЕ АСПЕКТЫ ПАТОГЕНЕЗА ДАННОГО СОСТОЯНИЯ

Г. К. Гогичадзе, Ф. Г. Долидзе

*НИИ гематологии и переливания крови им. Г. М. Мухадзе Министерства  
здравоохранения и соцобеспечения Республики Грузия, Тбилиси*

Поступила в редакцию 6.01.91

Предполагается, что состояние иммунодефицита различного генеза может наступать в результате образования поликардиоцитов, а возникновение онкологических заболеваний при СПИДе происходит из-за формирования дикарионов. В обоих случаях данные клеточные образования могут возникать в результате слияния иммунокомпетентных клеток, чему способствуют дефекты клеточной мембраны, образованные при воздействии вирусов и других этиологических факторов.

Синдром приобретенного иммунного дефицита (СПИД) можно квалифицировать как иммунодефицитное состояние, обусловленное различными этиологическими факторами, в частности биологическими, физическими, химическими агентами, лекарственными препаратами, стероидными гормонами, антибиотиками, метаболическими нарушениями, стрессом, массовой потерей белка, злокачественным ростом [10, 21]. Однако наиболее рельефно патологические изменения, свойственные дефицитам иммунного статуса, проявляются при СПИДе, индуцированном вирусом иммунодефицита человека (ВИЧ).

В последнее время большой интерес вызывает частое проявление онкологических заболеваний (ОЗ) при ВИЧ-индуцированном СПИДе, в частности более чем у 40% всех больных. Среди ОЗ саркома Капоши (СК) отмечается приблизительно у 30%, а злокачественные лимфомы (ЗЛ) — у 8—10% больных [1]. Изредка выявляются лимфогранулематоз, гистiocитарная лимфома, лимфома Беркита, а также аденокарциномы легких, множественная миелома, гепатома, грибовидный микоз и

т. п. Новообразования сходного гистогенеза наиболее часты при трансплантациях внутренних органов, а также при хронической реакции «трансплантат против хозяина» [14, 16]. В то же время ОЗ и так называемые оппортунистические инфекции неспецифичны для СПИДа, индуцированного ВИЧ, и могут наблюдаться при иммунодефицитах, связанных с применением различных лекарственных препаратов, обладающих иммуносупрессивным действием [9, 11]. Например, при СПИДе, индуцированном хронической интоксикацией диоксина, значительно повышается частота возникновения СК и ЗЛ [25].

Существуют различные объяснения резкого возрастания частоты ОЗ при иммунодефицитах различного происхождения. В частности:

1. При ВИЧ-индуцированном СПИДе ОЗ происходит в результате онкогенного действия ретровирусов непосредственно на клетки хозяина. Однако, несмотря на то, что многие вирусы из семейства ретровирусов обладают онкогенной потенцией, геном ВИЧ не содержит какие-либо клеточные онкогены.

2. По теории Ф. Бернета [18], в организме постоянно формируются спонтанно трансформированные клетки, которые элиминируются иммунными силами организма. При ослаблении иммунного статуса (после воздействия различных факторов, в том числе вирусов) вероятность формирования опухолевых клеток значительно возрастает, т. е. возникновение ОЗ можно считать вторичным эффектом. Однако данная теория не в состоянии объяснить причину возникновения СК и ЗЛ при СПИДе. Кроме того, в последние годы было показано, что иммунный дефицит является скорее следствием развития злокачественного процесса, а не причиной способствующей зарождению опухолевой клетки [8, 16, 23]. В частности, подавление иммунной системы не является причиной возникновения СК, так как данная патология возникает уже на ранних стадиях инфекции ВИЧ, т. е. до существенного подавления иммунного статуса.

3. Нередко факт повышения частоты ОЗ при иммунодефицитах рассматривается как результат онкогенного действия латентных вирусов, персистирующих в организме (вирусы герпеса, цитомегалиовирус, аденовирусы и т. п.). Однако вопрос о возникновении СК и ЗЛ и в этом случае остается открытым.

Таким образом, ни одна из существующих гипотез не в состоянии в полной мере объяснить причину частого развития при СПИДе злокачественных новообразований именно вышеупомянутого гистогенеза (СК и ЗЛ).

В настоящей работе образование ОЗ при СПИДе рассматривается с позиции гибридационной гипотезы канцерогенеза [3—5, 20]. В последние годы многие исследователи отмечают появление в тканях больных ВИЧ-индуцированного иммунодефицита гигантских многоядерных клеток — поликариоцитов, сформировавшихся путем клеточного слияния [15, 22]. Мы считаем, что с формированием поликариоцитов возможно образование и дикарионов, т. е. клеток, состоящих из двух ядер разнотипных (гетерокарионы) или однотипных (гомокарионы) клеток, обладающих высокой онкогенной потенцией. После механического слияния интерфаз-

ных ядер или же их воссоединения в результате синхронного митоза может формироваться одноядерная гибридная, тетраплоидная клетка — синкарион (синонимы: иницированная, иммортализованная, преканцерозная). На второй стадии онкогенеза (промоции), после ряда превращений на молекулярном уровне, может образоваться опухолевый синкарион с неограниченной способностью к пролиферации [5]. Поскольку поликариоциты (исходя из лимфо- и макрофаготропности ВИЧ) обычно состоят из лимфоидных и макрофагальных элементов, вполне вероятно, что эти же клетки участвуют в образовании дикарионов. Исходя из этого, а также учитывая, что лимфоциты и макрофаги являются доминантными и в отношении фенотипических свойств, клеточный субстрат у возникших при СПИДе злокачественных новообразований в большинстве случаев может иметь лимфоидную, макрофагальную или же т. н. «промежуточную» морфологию. Исходя из данной предпосылки, при иммунодефиците любого генеза в первую очередь следует ожидать формирования злокачественных новообразований, состоящих из лимфоидных или макрофагальных клеточных элементов. Интересно, что опухоли сходного гистогенеза могут возникать в результате соматической гибридализации при трансплантации аллогенных внутренних органов и аутоиммунных реакциях [6, 7], т. е. при тех состояниях, когда неизбежен иммунный конфликт с участием иммунокомпетентных клеток.

Другой возможностью формирования ОЗ при ВИЧ-индуцированном СПИДе, на наш взгляд, может явиться воспаление, обусловленное ВИЧ, латентными вирусами, микроорганизмами или же лекарственными веществами. Как показывает клиническая практика, при дефицитах клеточного и гуморального иммунитета, воспаление, индуцированное различными этиологическими факторами, может приобрести хроническое течение, при котором создаются условия, способствующие формированию опухолевой клетки. В частности, при данном состоянии из-за учащения разнообразных контактов, вероятно, стимулирование процесса слияния клеток и соматической гибридализации с воз-

можным формированием опухолевой клетки. Исходя из вышесказанного, можно заключить, что иммунодефицит в данном конкретном случае является фоном, на котором зарождается опухолевая клетка.

Мы считаем, что процесс влияния клеток, индуцированный ВИЧ или другими факторами, может приобрести большое значение и в важнейшем аспекте патогенеза СПИДа, в частности в существенном уменьшении количества Т4-хелперов. Как было отмечено выше, сформировавшиеся поликариоциты в большинстве случаев включают в себя лимфо- и макрофагальные элементы, в которых локализованы ретровирусы [19, 24]. Многоядерная клетка в данном конкретном случае является генетическим тупиком, т. е. она нежизнеспособна и вскоре погибает. С увеличением числа ядер она утрачивает способность вступать в S-период и митоз. Т4-хелперы, включившиеся в эту структуру, теряют свою функциональную активность и также погибают. Таким образом, формирование поликариоцитов, на наш взгляд, является наиболее вероятной причиной исчезновения Т4-лимфоцитов из периферической крови, костного мозга, тимуса, лимфатических узлов и т. п.

На сегодняшний день общепринятым считается соображение о формировании поликариоцитов посредством связывания вирус-специфического гликопротеида gp 120 и антигена клеточной мембраны CD4. После заражения ВИЧ gp 120 локализуется на клеточной мембране. При контакте со здоровой клеткой, имеющей на своей поверхности антиген CD4, gp 120 и CD4 могут связываться, в результате чего клетки объединяются, возможно, путем прямого влияния. Получившийся поликариоцит по-прежнему несет на мембране gp 120 и способен к дальнейшему слиянию со здоровыми клетками. Нередко обнаруживаются поликариоциты, состоящие из 50—500 клеток [2, 22].

Однако цитируемые работы обладают, на наш взгляд, некоторыми принципиальными недостатками. Во-первых, в рамках существующих представлений невозможно объяснить факт образования поликариоцитов при иммунодефицитах невирусного генеза, в силу отсутствия в

этих случаях вирусного гликопротеина gp 120. Кроме того, неясным образом связывание gp 120 и CD4 обеспечивает не только контакт, но и множественное слияние. Известно, что поликариоциты нередко образуются и без участия какого-либо вирусного агента и его белка. Например, гигантские клетки могут формироваться при различных бактериальных инфекциях (в частности во время туберкулеза) а также при лимфогранулематозе, множественной миеломе, иммунодефицитах невирусного происхождения и т. п. Поликариоциты закономерно возникают при внедрении в организм различных инородных тел. Подобные структуры могут образовываться и при воздействии различных химических и физических факторов (например, при низких значениях pH в культуре ткани, а также после рентгеновского или  $\gamma$ -облучения). Мы предполагаем существование близкого по природе механизма образования поликариоцитов, связанного с формированием дефектов клеточной мембраны, что, как оказалось, может способствовать агрегации и последующему слиянию клеток [5]. Образование дефектов во время прикрепления ВИЧ к соответствующему рецептору (вероятно, к CD4) на плазматической мембране клетки, способно индуцировать локальное растворение мембраны. При этом образование дефектов может происходить как во время адсорбции вирусных частиц на клеточной поверхности и их проникновения в клетку, так и при отпочковывании от плазмалеммы. В связи с этим следует подчеркнуть, что наряду с ретровирусами, фузогенной потенцией обладают и многие другие вирусы различных групп: парамиксовирусы (например, вирус Сендай), вирусы герпеса, оспы, коронавирусы.

Сходные перфорации на плазматической мембране клеток (в данном конкретном случае Т4-хелперов) с дальнейшим формированием поликариоцитов и дикарионов, могут индуцировать и другие этиологические факторы иммунодефицитов, в частности различные химические и физические агенты [12, 13, 17].

У серопозитивных по инфекции ВИЧ, но асимптоматичных вирусносителей, а также у больных пред-

СПИДом, появление в периферической крови, костном мозге или других органах и тканях поликардиоцитов, видимо, может способствовать определению неблагоприятного прогноза, а также степени прогрессирования данного заболевания, что позволит повысить эффективность проводимого лечения.

Таким образом, нами предлагается следующее объяснение патогенеза ВИЧ-индуцированного СПИДа и причин формирования ОЗ определенного гистогенеза:

— ВИЧ является низкоконтагиозным инфекционным, фузогенным агентом с двойным эффектом действия, приводящим как к значительному сокращению количества Т4-хелперов, так и к нередкому формированию опухолевых клеток.

— ВИЧ индуцирует перфорации на плазматических мембранах клеток, к которым он имеет повышенную тропность. Перфорации образуются как во время контакта вируса с клеткой, так и при его отпочковывании от плазматической мембраны. Вследствие этого происходит агрегация, а затем слияние клеток, т. е. образуются поликардиоциты и дикарионы, состоящие из клеток преимущественно лимфо- и макрофагально-го происхождения.

— Поликардиоциты нежизнеспособны, их гибель вызывает резкий дисбаланс в системе иммунитета. Дикарионы обладают онкологической потенцией и изредка могут превращаться в преканцерозную, а затем в опухолевую клетку.

— Участие в дикарионах лимфоидных и макрофагальных клеточных элементов способствует частому образованию СК, ЗЛ и других лимфопролиферативных новообразований.

— При ВИЧ-индуцированном иммунодефиците происходит активация латентных вирусов и других микроорганизмов. Не встречая ответной защитной клеточной реакции, они быстро размножаются и доминируют в симптоматике заболевания.

— На фоне хронического воспаления возможны различные кооперации иммунокомпетентных клеток как друг с другом, так и с другими клеточными элементами, с вероятным образованием опухолевой клетки.

— Подобный механизм возникновения ОЗ и уменьшения количества Т4-хелперов возможен не только при ВИЧ-индуцированном СПИДе, но и при иммунодефицитах другого происхождения.

## ЛИТЕРАТУРА:

1. Алиев Д. А., Мамедов М. К. Вопр. онкол., 5, 515—522, 1990.
2. Вебер Д. Н., Вейсс Р. А. В мире науки, 12, 71—77, 1988.
3. Гогичадзе Г. К. В сб.: Актуальные проблемы гематологии и трансфузиологии (Тр. Ин-та ГПК МЗ ГССР), «Мецниереба», Тбилиси, 1987, 98—104.
4. Гогичадзе Г. К. Изв. АН ГССР, сер. биол., 14, 3, 166—173, 1988.
5. Гогичадзе Г. К. Гематол. трансфузиол., 6, 54—57, 1989.
6. Гогичадзе Г. К. Изв. АН Грузии, сер. биол., 17, 6, 378—383, 1991.
7. Гогичадзе Г. К. Сакартвелос Самедицино моамбе, 2, 48—49, 1992.
8. Грицман Ю. Я. Беседы врача-онколога, «Знание», М., 1988.
9. Кадагидзе З. Г., Каламкария А. А., Керимов С. Г., Деревинина Н. А., Мазина Н. М., Вескова Т. К. Вести. дерм. и венерол., II, 15—20, 1987.
10. Казанцева И. А., Бельская О. Б., Безуглова Т. В. Арх. патол., 6, 61—64, 1988.
11. Казанцева И. А., Пермяков Н. К. Арх. патол., 7, 3—9, 1990.
12. Лебкова Н. П. Арх. патол., 9, 25—32, 1973.
13. Меркурьева Р. В., Долинская С. И., Шахтман А. Б., Гасанов Т. Г., Гаджиева Т. И., Шахмирова С. Ф. Бюлл. эксп. биол. мед., 103, 2, 198—200, 1987.
14. Турусов В. С. Арх. патол., 2, 3—13, 1983.
15. Хэзелтайн У. А., Вонг-Стааль Ф. В. В мире науки, 12, 20—29, 1988.
16. Шевелев А. С. Иммунология, 5, 5—11, 1982.



17. Arvinte T., Cudd A., Schulz B., Nicolau C. *Bioch. et Bioph. Acta*, 981, 61—68, 1989.

18. Burnet F. M. *Brit. med. j.*, 1, 5022, 779—793, 1957.

19. Gray F., Gauland P., Le Bezu M., Sinclair E., Gherardi R., Scaravilli F., Poirier J. J. *Histopathology*, 16, 4, 402—405, 1990.

20. Hallion L. *Press med.*, XV, 10 — 11, 1907.

21. Lever A. M. L., Webster A. D. B. *Med. Int (Gr. Brit.)*, 2, 6, 245—252, 1984.

22. Lifson J. D., Reyes G., Mc M. S., Stein R. S., Engleman E. G. *Science*, 232, 1123—1127, 1986.

23. Old L. J. *Cancer res.*, 41, 9, 361—375, 1981

24. Rinfret A., Latendresse H., Leiebvre R., St-Louis G., Jolicoeur P., Lamarre L. *Amer j. Path.*, 138, 2, 421—426, 1981.

25. Vinelis P., Zahm S. *Lancet*, 8575, 55, 1988.

შიდსის დროს ონკოლოგიური დაავადებების წარმოქმნა და იმუნოდეფიციტის კათორგენეზის ზოგიერთი ასპექტი

ბ. გოგიჩაძე, თ. დოლიძე

საქართველოს ჯანმრთელობის დაცვისა და სოცულურენველუოფის სამინისტროს აკად. გ. მუხაძის სახელობის პემატოლოგიისა და სისხლის გადასხმის ს/კ ინსტიტუტი, თბილისი

რეზიუმე

ვირუსით ინდუცირებული იმუნოდეფიციტის დროს ავთვისებიანი სიმსივნეების განვითარება განხილულია კანცეროგენეზის ჰიბრიდიზაციული ჰიპოთეზის პოზიციებიდან. შიდსის გამომწვევ ვირუსს — დაბალკონტაგიოზურ ინფექციურ

ფუზოგენურ აგენტს გააჩნია მოქმედების ორგვარი ეფექტი: ამცირებს T<sub>4</sub>-ჰელპერების რაოდენობას და არც თუ იშვიათად ხელს უწყობს სიმსივნური უჯრედის წარმოქმნას.

RISE OF ONCOLOGICAL DISEASES IN AIDS AND SOME ASPECTS OF PATHOGENESIS OF THIS STATE

G. GOGICHADZE, T. DOLIDZE

G. Mukhadze Institute of Hematology and Blood Transfusion, Georgian Ministry of Health and Social Maintenance, Tbilisi

Summary

We assume that the possible reason of formation of the different genesis in immunodeficiency states and presence of the oncological diseases in AIDS may be formation of polykaryocytes (in case 1)

and dikaryons (in case 2) as a result of immunocompetent cell fusion. Fusion can be caused by cell membrane defects affected by viruses and various etiologic factors.



УДК 591.445.2

ЦИТОЛОГИЯ

## МОРФОЛОГИЧЕСКИЕ ИЗМЕНЕНИЯ КОРКОВОГО ВЕЩЕСТВА НАДПОЧЕЧНИКОВ ПРИ ГИПОКИНЕЗИИ

З. Г. Мгалоблишвили

*Грузинский зооветеринарный учебно-исследовательский институт, Тбилиси*

Поступила в редакцию 20.03.91

Гипокинезия приводит к изменению строения коркового вещества надпочечника, на что указывает активация функции спонгиозитов пучковой зоны. Морфологический симптомокомплекс указанной реакции довольно типичен и характеризуется четко выраженной фазностью изменений.

Гипокинезия вызывает комплекс разнообразных изменений в организме, в основе которого лежат наруше-

ния водно-солевого обмена, деятельности нейро-эндокринной, костно-мышечной и сердечно-сосудистой систем.

### МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ

Исследование выполнено на крысах-самцах линии Вистар. Животные помещались в специальные клетки пеналы по методике Л. И. Полянской [9]. Изучены возрастные особенности морфологической перестройки коркового вещества надпочечной железы при гипокинезии. Для этой цели использовали крыс трех возрастных групп: 1, 6 и 24 месяцев. В каждой

группе по 21 животному забивали спустя 1, 10 и 30 суток после ограничения двигательной активности.

Ультратонкие срезы изготавливались с помощью ультратома ЛКВ-III, окрашивались насыщенным раствором уранилацетана на метаноле и цитратом свинца [1] и просматривались в просвечивающем электронном микроскопе ЭМВ-100 АК.

### РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

Спустя 1 сутки после иммобилизации у 1-месячных крыс отмечается уменьшение числа липидных капель в спонгиозитах пучковой зоны. В тубуло-везикулярных митохондриях отдельных спонгиозитов пучковой зоны накапливаются миелиноподобные фигуры. Изредка указанные образования встречаются и в цитоплазматическом матриксе. При изучении нативных препаратов ПЭМ поры в эндотелиальной выстилке встречаются довольно редко, лишь в некоторых участках пучковой зоны. На коррозионных препаратах экстравазатов инъекционной массы нет.

Через 10 дней гипокинезии в клетках пучковой зоны идет процесс мобилизации липидов. Все чаще встре-

чаются дистрофические изменения клеток периваскулярного отека (рис. 1). Васкуляризация коркового вещества увеличена. Число фенестр в эндотелии кровеносных капилляров возрастает. Появляются признаки сладжирования эритроцитов в синусоидах коркового вещества.

Через 30 дней гипокинезии описанные изменения существенно редуцируются, однако не достигают исходного уровня. В то же время сохраняются отдельные признаки нарушения компенсации. В единичных кортицитах встречаются пикнотически измененные ядра, набухшие митохондрии. Между спонгиозитами встречаются лимфоциты. На люминальной поверхности синусоидных капилляров часто

аеются складки. Количество пор значительно снижается по сравнению с предыдущим сроком.

У 6-месячных крыс через 1 сутки после иммобилизации обнаруживается некоторое снижение содержания липидных капель в цитоплазме спонгиозитов пучковой зоны. Одновременно

Через 10 суток гипокинезии описанные морфологические изменения не сколько усиливаются. Следует подчеркнуть большую, чем на предыдущем сроке, выраженность изменений сосудов, появление сладжа эритроцитов в просвете капилляров. В то же время нарастают и компенсаторные

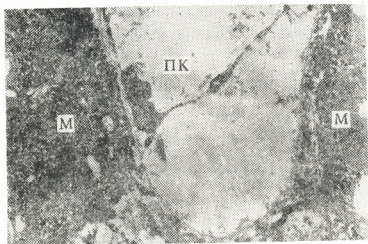


Рис. 1. Кортикное вещество надпочечников 1-месячной крысы после 10-дневной гипокинезии (просвечивающий электронный микроскоп — ПЭМ). Периваскулярный отек. х 14000

следует подчеркнуть расширение микрососудов. На ультратонких срезах заметна гипертрофия тубуло-везикулярных митохондрий клеток пучковой зоны (рис. 2). В ПЭМ на нативных препаратах обнаруживается не-

изменения. Поэтому на коррозионных препаратах экстравазация инъекционной массы практически не обнаруживается.

К концу 30 суток гипокинезии структурно-функциональные показа-

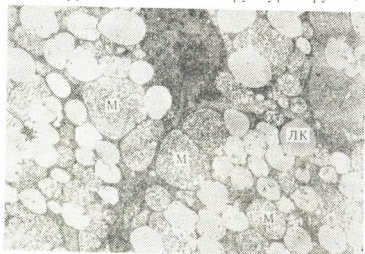


Рис. 2. Кортикное вещество надпочечников 6-месячной крысы после 1-дневной гипокинезии (ПЭМ); гипертрофия тубуло-везикулярных митохондрий (пучковая зона—ПЗ). х 7300

сколько увеличенное число пор в эндотелии капилляров. Это приводит к появлению небольших экстравазатов инъекционной массы на коррозионных препаратах.

тели коркового вещества надпочечников практически полностью нормализуются.

Морфологические изменения коркового вещества надпочечников при

ограничений двигательной активности у старых животных проявляются лишь незначительные особенности. Через 1 сутки происходит незначительное обеднение цитоплазмы спонгиоцитов пучковой зоны липидными каплями. Изменение ультраструктуры спонгиоцитов и синусоидных капилляров незначительны. В склерозированной интерстиции обнаруживаются небольшие участки отека. Встречается адгезия эритроцитов к люминальной цитолемме и увеличенные порозности эндотелия капилляров.

Через 10 дней указанные явления углубляются, но значительной динамики процесса не отмечается. Содержание липидных капель в цитоплазме спонгиоцитов пучковой зоны продолжает снижаться. Одновременно увеличивается маргинальная компенсация хроматина в ядрах, нарастает число вторичных лизосом, но наглядная динамика этого процесса отсутствует, поэтому трудно сказать, связана она с воздействием гипокинезии или обусловлена старческими изменениями. Сохраняется повышенная порозность кровеносных капилляров коркового вещества.

Через 30 дней гипокинезии число липидных капель в цитоплазме спонгиоцитов пучковой зоны начинает постепенно восстанавливаться. В то же

время достаточно часто встречаются дистрофически измененные. Наблюдается тенденция к нормализации строения как клеток клубочковой, так и сетчатой зон. Сохраняется довольно высокая порозность стенок кровеносных капилляров, что характерно для старых животных. Это хорошо видно как на криофрактограммах, так и на нативных препаратах в ПЭМ.

Таким образом, гипокинезия приводит к изменению строения коркового вещества надпочечников, свидетельствующему об активации функций, прежде всего синтезирующих глюкокортикоиды спонгиоцитов пучковой зоны. Морфологический симптомом комплекс данной реакции довольно типичен. Он характеризуется четко выраженной фазностью изменений, отражающих стадии структурно-функциональных перестроек в процессе постоянного воздействия стрессорного фактора. Указанный симптомом комплекс включает начальную форму обеднения цитоплазмы спонгиоцитов пучковой зоны липидами, увеличение порозности стенок их кровеносных капилляров, редко встречаются признаки перенапряжения отдельных клеток, что выражается развитием дистрофических изменений.

## ЛИТЕРАТУРА

1. Уикли Б. Электронная микроскопия для начинающих. «Мир», М., 1975.
2. Полянская Л. И. Сосудисто-паренхиматозные отношения в щитовидной железе в норме и при гипокинезии, Докт дисс., Иваново, 1991.

თირკმელზედა ჯირკვლის მერქოვანი ნივთიერების მორფოლოგიური ცვლილებები ჰიპოკინეზიის დროს

ზ. მგალობლიშვილი

საქართველოს ზოოვეტერინალური სასწავლო-კვლევითი ინსტიტუტი, თბილისი

რ ე ზ ი თ მ ე

ჰიპოკინეზიას მიყვავართ თირკმელზედა ჯირკვლის მერქოვანი ნივთიერების აგებულების ცვლილებებამდე, რასაც ადასტურებს თავდაპირველად ბაგირაკოვანი ზონის სპონგიოციტების მიერ სინთეზირებული გლუტკოკორტიკოიდების ფუნქციის გააქტიურება. მოცემული რეაქციის მორფოლოგიური სიმპტომოკომპლექსი საკმაოდ ტიპურია, ხასიათდება ცვლილებების მკვეთრად გამოხატულ

ფაზურობით. აღნიშნული სიმპტომოკომპლექსი მოიცავს საწყის ფაზას ლიპიდებით ბაგირაკოვანი ზონის სპონგიოციტების ციტოპლაზმის გაღარიბებას, მათ სისხლძარღვთა კაპილარების კედლების განცალკევების ზრდას, იშვიათად გვხვდება ცალკეული უჯრედების გადაძაბვის ნიშნები, რაც ვლინდება დისტროფიულ ცვლილებების განვითარებაში.

# MORPHOLOGICAL CHANGES OF ADRENAL GLAND CORTICAL SUBSTANCE IN HYPOKINESIA

Z. MGALOBlishvili

Georgian Zooveterinary Educational and Research Institute, Tbilisi

## Summary

Hypokinesia is known to be the cause of adrenal gland cortical substance alteration that evidences the function activation mainly of glucocorticoid synthesizing spongiocytes of fascicular zone. Morphological symptom complex of the given response is rather typical. It is characterised by distinctly expressed phases of changes reflecting the stages of structural and functional reconstruction

in the process of constant influence of stressing factor. The pointed symthomic complex includes caused by lipids the initial phase of the fascicular zone cytoplasmic spongiocyte improverishment, increasing of their blood capillary wall porosity, the signs of single cell overstrain, that is expressed by dystrophic alteration development.

УДК 576.3.31 : 581.8

ЦИТОЛОГИЯ

## К ИЗУЧЕНИЮ ТАПЕТУМА ПЫЛЬНИКА

М. Н. Яшвили, В. Р. Субелиани

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

Поступила в редакцию 22.03.91

В тапетуме пыльника кукурузы обнаружены ультраструктурные образования, которые, по предположению авторов, участвуют в процессах полимеризации и транспорта спорополленина.

Тапетум пыльника непосредственно участвует в процессах микроспорогенеза и в связи с этим среди слоев стенки пыльника ему посвящено наибольшее количество исследований. Однако из-за сложности функциональной нагрузки процессы, связанные с тапетумом, раскрыты не до конца.

С целью выявления причины цитоплазматической мужской стерильности (ЦМС) в 1976—78, 1980—82 гг. в условиях Дигомской опытной базы Института ботаники АН Грузии нами было проведено сравнительное электронномикроскопическое исследование слоев стенки пыльника фертильной кукурузы ВИР-44 и ее аналогов с ЦМС молдавского и техасского типов. В 1976—80 гг. фиксацию проводили в электронной микроскопии принятой методикой, а в 1982 г. в следующих трех вариантах: I. 3%-ным раствором глутаральдегида на 0,1 М какодилатном буфере (рН 7,0—7,2) при комнатной температуре (6—12 ч), промывали тем же буфером, постфиксировали в 1%-ном растворе OsO<sub>4</sub> на какодилатном буфере в течение 12 ч, обезвоживали в сериях этанола и пропиленоксида и затем заключали в смесь эпон—аралдит; II. для локализации активности каталазы применяли ДАБ-реакцию: инкубацию проводили в темноте при 37°C сразу же после продолжительной (10—16 ч) предфиксации глутараль-

дегидом и короткого (5—15 мин) споласкивания буфером (инкубационная среда содержала 0,2 мл свежеприготовленного 0,3%-ного раствора перекиси водорода, 9,8 мл глицинового буфера и 20 мг 3,3-диаминобензидина тетрагидрохлорида — (ДАБ), рН инкубационной среды доводили до 10,5 с помощью 4%-ного раствора NaOH, продолжительность инкубации составляла 2,5 ч; III — для определения активности каталазы использовалось также введение в инкубационную среду 0,005 М раствора KCN.

В материалах 1976—78 гг. (а также 1980 г.) нами были отмечены ультраструктурные нарушения в функционировании тапетума при обоих типах ЦМС на разных фазах его развития [11]. В отличие от них в материале 1982 г. в фазе одноядерного пыльцевого зерна (надо думать, что они появляются раньше) в тапетальных клетках пыльника фертильного и молдавского типа стерильного растения во всех вариантах фиксации нами были обнаружены еще никем не описанные удлинённые, разной толщины и длины образования с плотно упакованными мембранами (рис. 1—1-5). Такие структуры не наблюдались в пыльниках растений с ЦМС Т-типа, так как в этом случае деформация слоев стенки пыльника начинается на более раннем этапе развития тапетума.



Означенные образования обнаружены нами в цитоплазме разных частей клетки. Некоторые из них окутаны разной формы электронноплотной структурой (рис. 1—2,6). В нача-

встречаются по всей клетке. В связи с тем, что они появляются во время формирования пыльцы при лизисе тапетума, по-видимому, можно предположить, что описываемое ультра-

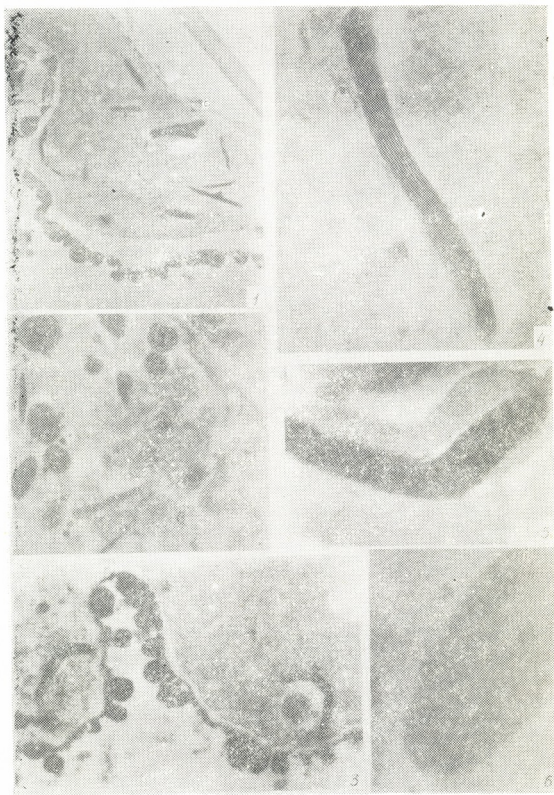


Рис. 1. Компактная мембранная структура в тапетуме: 1— $\times 1200$ ; 2— $\times 4000$ ; 3— $\times 4000$ ; 4— $\times 22400$ ; 5— $\times 22400$ ; 6— $\times 12800$

ле они компактны, но впоследствии расслаиваются и создают сеть, состоящую из пучков мембран разной длины и количества (рис. 2—1, 2, 5). Расслаивающиеся мембранные структуры

структурное образование принимает участие в процессах полимеризации и транспорта спорополленина.

Среди нераскрытых функциональных нагрузок тапетальной ткани во-

прос о механизме полимеризации и переноса спорополленина и его предшественников к пыльцевым зернам имеет важное значение, однако мне-

ния в этом отношении неоднозначны. Отмечается, что тапетум, являясь спорофитом, в процессе дифференциации отчасти приобретает признаки,

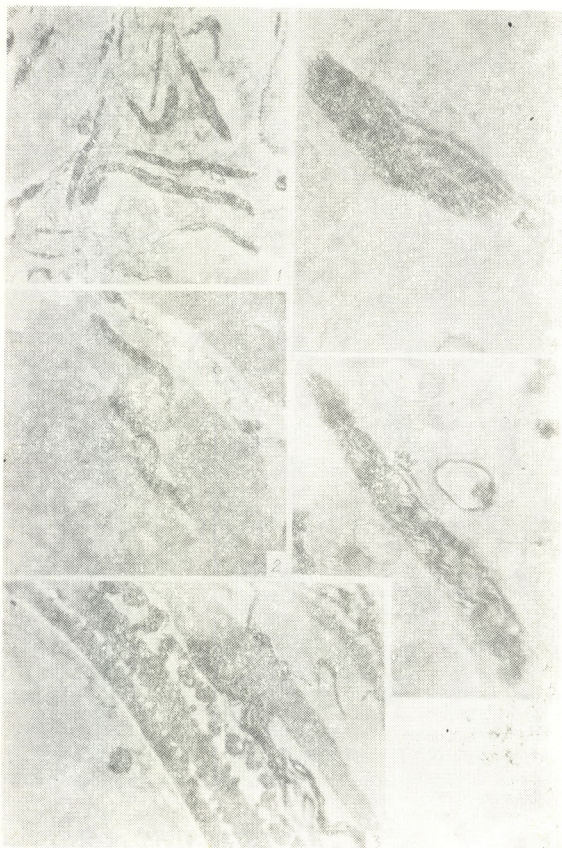


Рис. 2. Расслаивающаяся мембранная структура в тапетуме: 1— $\times 2000$ ; 2— $\times 2000$ ; 3— $\times 2000$ ; 4— $\times 22400$ ; 5— $\times 33000$

свойственные гаметофиту, т. е. изменяет свою плоидность и покрывается пленкой спорополлениновой природы, чем обусловлено возникновение этой пленки только в конце формирования тапетума [6]. Спорополленин — это полимер, предшественники которого образуются не только в тапетуме [13], и он может рассматриваться как побочный продукт метаболизма запасных веществ в развивающемся пыльнике [10]. Предполагается существование нескольких путей полимеризации [12]. Механизм полимеризации спорополленина связывают с мембранными пластинками, на которых осуществляется полимеризация [10, 12]. Есть предположение, что расположение спорополлениновых тяжей внутри тапетальных клеток может соответствовать расположению цистерн эндоплазматического ретикулума (ЭР), одной из функций которого является внутриклеточный транспорт спорополленина к периферии клетки, где и формируется тапетальная пленка [2, 3, 7, 8]. В то же время имеются мнения, что 1) в клетках тапетума образуется не сам спорополленин, а его предшественники, которые выходят из клеток и полимеризуются [4, 12], причем полимеризация происходит всегда экстрацеллюлярно [9]; 2) предшественники спорополленина формируются

в цистернах гранулярного ЭР [12]; 3) спорополленин откладывается на липоидном слое тапетальной пленки в виде мембраноподобных ламелл и глобул [5]; 4) вещество спорополленина формируется в специализированных пластидах [14]. Н. И. Габараевой [1] у примитивных покрытосеменных обнаружены агрегаты ЭР, представляющие собой комплекс АЭР и ГЭР, которые, по мнению автора, синтезируют липопротеиды, являющиеся предшественниками спорополленина.

Учитывая широкий спектр суждений по данному вопросу, обнаруженная нами структура, возможно, является тем ультраструктурным образованием, которое обеспечивает полимеризацию и транспорт спорополленина. Она представляет собой временное ультраструктурное образование, которое, по-видимому, в зависимости от выполняемой функции меняется: пока формируется спорополленин (или его предшественник) она представлена в виде компактной мембранной структуры, а при включении функции транспорта — расслаивается.

Наши предположения, конечно, не исключают возможности другого объяснения существования указанного образования, основанного на дальнейшем, более углубленном его изучении.

## ЛИТЕРАТУРА

1. Габараева Н. И. Бот. журн., 75, 6, 783—791, 1990.
2. Голубева Е. А. Тр. по прикл. бот., ген. и сел., 60, 2, 94—99, 1977.
3. Голубева Е. А., Огородникова В. Ф., Орел Л. И. Тр. по прикл. бот. ген. и сел., 60, 2, 122—124, 1977.
4. Огородникова В. Ф. Тр. по прикл. бот., ген. и сел., 74, 27—36, 1983.
5. Огородникова В. Ф. Бот. журн., 71, 10, 1366—1371, 1985.
6. Орел Л. И. Тр. по прикл. бот., ген. и сел., 60, 2, 3—6, 1977.
7. Орел Л. И., Огородникова В. Ф. Бюллетень ВИР, 83, 72—81, 1978.
8. Орел Л. И., Вишнякова М. А., Константинова Л. Н. Цитология, XXVI, 7, 767—772, 1984.
9. Резникова С. А., Виллемсе М. Т. Бот. журн., 66, 8, 1155—1165, 1981.
10. Резникова С. А. Цитология и физиология развивающегося пыльника, «Наука», М., 1984.
11. Яшвили М. Н. Сообщения АН ГССР, 93, 2, 433—436, 1979.
12. Dickinson H. G. Pollen et spores, 18, 321—334, 1976.
13. Heslop-Harrison J. Bot. Roy. Soc. London, 190, 110, 275—299, 1975.
14. Lin Chend-yun, Li Song Xu Wei-Ming, Шянь шэнь у ся э ба о. Acta biolog. experimentalia Sinica, 20, 2, 119—127, 1987.

მ. იაშვილი, ვ. სუბელიანი

საქართველოს მეცნიერებათა აკადემიის ნ. კეცხოველის სახელობის ბოტანიკის ინსტიტუტი,  
თბილისი

რ ე ზ ი უ მ ე

სიმინდის მტვრიანას ტაპეტუმში აღ-  
მოჩენილია ულტრასტრუქტურული წარ-  
მონაქმნები, რომლებიც, ავტორთა აზრით,  
შესაძლებელია უზრუნველყოფენ სპორო-

პოლენინის (ან მისი წინამორბედების) პო-  
ლიმერიზაციისა და ტრანსპორტის პრო-  
ცესს.

## ON THE STUDY OF ANTHER TAPETUM

M. IASHVILI, V. SUBELIANI

N. Ketskhveli Institute of Botany, Georgian Academy  
of Sciences, Tbilisi

### S u m m a r y

During the studies of cytoplasmic male sterility of maize in the mononuclear pollen grain stage in anther tapetum cells, the authors have discovered elongated formations of different thickness and length with closely packed membranes. They are situated in the different parts of the cell cytoplasm. Some of them are wrapped in electrodense structure of different forms. At the beginning they are compact, but afterwards they are divided into layers and form bunches of membranes of different length and quan-

ty. As they appear during pollen formation, the authors suppose that these structures may be ultrastructural formations securing sporopollenin polymerization and transportation processes. They represent temporary ultrastructural formations which change according to their function: during sporopollenin (or their predecessors) formation they are presented in the form of compact membrane structures and when the transportation function sets in motion they fall into membrane bunches of different thickness.



UDC 577.612.015

BIOCHEMISTRY

## CHANGES IN $^3\text{H}$ -GLUTAMATE BINDING WITH MEMBRANES OF THE CHICK BRAIN AFTER VISUAL IMPRINTING

R. SOLOMONIA, S. ADAMIA, D. MIKELADZE

Institute of Physiology, Georgian Academy of Sciences, Tbilisi

Accepted in May 25, 91

Many data strongly suggest that the intermediate and medial part of the hyperstriatum ventrale (IMHV) of the chick brain left hemisphere is crucially involved in visual imprinting information storage [18].  $^3\text{H}$ -glutamate binding with IMHV membranes was studied using specific ligands to N-methyl-D-aspartate (NMDA) and  $\alpha$ -amino-3-hydroxy-5-methylisopropionate (AMPA) receptors: 2-amino-7-phosphonoheptanoic acid (AP7) and AMPA as displacers. According to the peculiarity of experimental conditions the study was carried out with 3 groups of chicks; imprinted, light exposed and dark — reared. Estimation of  $K_D$  and  $B_{\max}$  values of  $^3\text{H}$ -glutamate binding in dark control birds revealed that the right hemisphere by the amount of available binding sites exceeds the left one. 3,5 hours later after the beginning of experiment the increase in the binding for both subtypes of glutamate receptors reaches the highest level in imprinted as well as in light control chicks, but in the left IMHV of trained birds it exceeds the corresponding control values. A part of this prevalence significantly persists for 24 hours. Additional training induce more sharp increase of binding again in the IMHV of the left hemisphere of trained chicks. It is suggested that this increased binding is not a side effect of an experiment, but may be attributed to imprinting information storage in chicks.

Glutamate (GLU) and aspartate are considered as the major excitatory neurotransmitter candidates in the vertebrate central nervous system [12, 23, 37]. The studies using selective agonists have suggested the existence at a least 5 main categories of excitatory amino — acid receptors: the N-methyl - D - aspartate (NMDA); AMPA; kainate (KA); 2-amino-4-phosphonobutyric acid (AP-4) and the metabotropic subtypes [38]. The NMDA receptors seem to have a critical role in synaptic plasticity [2, 8, 24] since they provide the trigger for the induction of long — term potentiation [9, 14, 28] whereas, the actual enhancement of synaptic efficacy is thought to be provided by the AMPA receptors [11, 24, 30].

The comparable problem of interpreting changes in certain aspects of brain biochemistry following learning has largely been overcome in the case of visual imprinting in domestic chicks [18]. Imprinting is regarded as a genetically programmed learning mechanism expressed in a social attachment to a first moving object of a newly hatched chick, as a result of being exposed to it. Many findings taken together strongly suggest that a restricted region, the intermediate and medial part of the hyperstriatum ventrale (IMHV) of the chick brain left hemisphere is a site of imprinting information storage [18]. An increase in the mean length of the post-synaptic density (PSD) profiles of synapses in the left





IMHV after imprinting was demonstrated [5]. The increase was restricted to PSD profiles of axospinous synapses [19]. An 59% increase in NMDA — sensitive L-[<sup>3</sup>H]-GLU binding after imprinting was also associated only with the IMHV of the left hemisphere [26].

Quantitative autoradiographic study of glutamatergic ligand binding sites in the

chick brain revealed that forebrain binds NMDA receptors is also enriched with [<sup>3</sup>H]-AMPA and AMPA sensitive [<sup>3</sup>H]-CNQX binding sites [15, 16]. The present study was aimed to study in parallel AP7 (specific antagonist of NMDA receptors) and AMPA sensitive <sup>3</sup>H-GLU binding changes in the chick brain IMHV after the visual imprinting in a time dependent fashion.

#### MATERIALS AND METHODS

**Rearing and Training.** White leghorn chicks of either sex were hatched and reared individually in special boxes in darkness. Experiments were performed 17 — 20 hours after hatching. Animals were divided into three groups: dark control, light control and imprinted groups. Each of these groups consisted of 8 chicks. The process of imprinting was carried on in the apparatus of Hess [17] during 30 minutes. The conspicuous object was a red box. After the following reaction the direction of rotating box was changed by an experimenter. The amount of runned circles were not less than 10 and this corresponded to 25 metre. Animals from the light control groups were exposed individually to illumination from an overhead light during the same time. After imprinting training and light illumination chicks were returned to an incubator and kept in darkness. In the case of the time point "27 hours after the beginning of experiment" the chicks were retrained (imprinted group) or reexposed to overhead light illumination (light control group) for 20 minutes 24 hours after the first session. For the study of <sup>3</sup>H-GLU binding changes in a time dependent fashion for the starting point was accepted the moment of first exposure of chicks either to the moving object or to overhead light illumination and for the terminating point the moment of decapitation. The chicks before the decapitation were not given a preference test between familiar and nonfamiliar object to avoid any possibility of the

test induced changes in ligand binding. Investigation of parallel groups of chickens revealed that the mean value of the preference score in our conditions of training is not less than 75%.

**Preparation of Membranes.** All chicks were killed by decapitation. A piece of brain tissue comprising mainly the IMHV, either left or right, was dissected out and placed in a tube to which the next seven samples were added and stored in liquid nitrogen. The tissue was homogenized in an ice-cold solution of 0.32 M sucrose and centrifuged at 1000g for 10 min. The supernatant was saved and the pellet was washed once with the same solution. The resulting supernatants from initial centrifugations were combined and pelleted at 17000g for 20 min. The crude synaptosomal-mitochondrial fraction was lysed in ice-cold deionized water. After 30 min, the suspension was centrifuged at 17000g for 30 min. The pellet was resuspended in ice-cold water and centrifuged for 30 min at 17000g. This latter step was repeated twice. The pellet was finally resuspended in 50 mM Tris-acetate buffer, pH 7.4 (protein concentration 0.5—1 mg/ml).

**Binding Assay.** <sup>3</sup>H-GLU binding assay was carried according to the method of Baudry and Lynch (3) with some minor modifications. The reaction mixture (final volume 0.1 ml) contained 50 mM Tris-acetate buffer, pH 7.4., 0.5 μM <sup>3</sup>H-GLU (specific activity 38.1 Ci/mM, Sankt-Peterburg, USSR.) and 12 — 15 μg of IMHV membrane protein. Incubation wa



carried out at 30°C for 15 min and was terminated by the addition of 3 ml cold Tris-HCl buffer and by filtration under vacuum on glass microfibre filters (whatman GF/B). The tubes were rinsed with 5 ml of the same buffer and finally the filters were washed with 5 ml of cold Tris-HCl. The radioactivity of the filters were counted in a intertechnique SL-4000 scintillation counter, with 5 ml of toluene scintillation cocktail. For the determination of  $K_D$  and  $B_{max}$  values varying concentrations of  $^3H$ -GLU (20 — 1000 nM) were included into the reaction mixture. For the determination of the nonspecific binding parallel series of tubes contained 1000 fold excess of cold ligand. AP7, AMPA and some other ligand sen-

sitive  $^3H$ -GLU binding was counted by subtracting the amount of radioactivity bound in the presence of appropriate displacer from the total binding.

$K_D$ ,  $B_{max}$  and  $K_i$  values were generated by the Kinetic, EBDA, LIGAND and Lowry program from Elsevier—Biosoft [27]. Protein content was assayed according to Peterson [31].

Statistical Analysis. Data from various groups of chickens were compared by one-way ANOVA test. Values of n denote the number of tissue samples. For the evaluation of kinetic data the  $n=4$  and each sample comprises the material from 20 IMHV. In the case of behavioral studies the  $n=5$  and each sample comprises the material from 8 IMHV.

## RESULTS

Characterization of  $^3H$ -GLU Binding Sites. AP7 and AMPA sensitive  $^3H$ -GLU binding in membranes from pooled left and right IMHVs of dark reared chicks was saturable. The apparent  $K_D$  and  $B_{max}$  values are shown in Table 1.  $K_D$  values

and antagonists in displacing  $^3H$ -GLU binding from IMHV membranes from left and right hemispheres was investigated. The inhibition constants ( $K_i$  values) are given in table 2. The rank order of potency for competitive ligands in

Table 1

Kinetic constants of AP7 and AMPA sensitive  $^3H$ -GLU binding of dark-reared chick brain IMHV membranes determined from saturation curve analysis. Data represents the mean value of four separate experiments

Chick brain region	AP7 — sensitive $^3H$ -GLU binding		AMPA—sensitive $^3H$ -GLU binding	
	$K_D$ (nM)	$B_{max}$ pmol/mg protein	$K_D$ (nM)	$B_{max}$ pmol/mg protein
IMHV left hemisphere	94 ± 12	3.01 ± 0.19	222 ± 11	4.05 ± 0.25
IMHV right hemisphere	105 ± 16	3.93 ± 0.32	137 ± 24	5.06 ± 0.38

were similar for the membranes of the left and right IMHVs for both tested ligands, but by the number of maximum binding sites the IMHV of the right hemisphere exceeds the left one (for NMDA receptors  $30 \pm 11\%$ ,  $p < 0.01$  and for AMPA receptors  $25 \pm 9\%$ ,  $p < 0.01$ ).

Ligand Competition Study. The potency of a number of glutamatergic agonists

displacing  $^3H$ -GLU binding is  $AP5 > >AP7 > AMPA > CNQX > KA$ .

Changes in AP7 Displacable  $^3H$ -GLU Binding After Imprinting and First light Exposure. During the first 1 hour after the beginning of the experiment no changes are observed in the imprinted group of chicks, whereas at the end of this period increase in the binding is observed

Inhibition constants of  $^3\text{H}$ -GLU binding with dark-reared chick brain IMHV membranes by glutamatergic drugs. Concentration of  $^3\text{H}$ -GLU was 500 nM. Experiments were performed with at least 8 different competitive ligand concentrations. Data represents the mean value of 4 separate experiments

Glutamatergic drugs	$K_i$ (M)	
	IMHV of the left hemisphere	IMHV of the right hemisphere
AP5	0.099	0.091
AP7	0.157	0.150
AMPA	1.29	1.35
6-Cyano-7-nitroquinoxaline-2,3-dione (CNQX)	1.49	1.55
kainic acid (KA)	4.49	4.71

in light control group the IMHV of the left hemisphere exceeds the initial level by  $66 \pm 11\%$ ,  $p < 0.001$  and the right one by  $20 \pm 7\%$ ,  $p < 0.005$ . After following 0.5 hour increase in binding is started in the IMHV of the left hemisphere of imprinted birds which exceeds the initial control and previous values (correspondingly by  $40 \pm 4\%$ ,  $p < 0.01$  and by  $68 \pm 5\%$ ,  $p < 0.01$ ) but not the light control. During the time interval 2,5 — 3,5 h after the starting experiment  $^3\text{H}$ -GLU binding is again increased in the light control group as compared to previous already increased values and also in the IMHV of the right hemisphere of imprinted chicks, (Fig. 1). At the time point 3.5 h after the starting experiment the IMHV of the left hemisphere of trained animals exceeds the initial value by  $220 \pm 14\%$  ( $p < 0,0001$ ) and also the light control by  $46 \pm 5\%$  ( $p < 0,01$ ). In the IMHV of the right hemisphere the increase as compared to initial control is  $119 \pm 20\%$  ( $p < 0,0001$ ) but there is no any difference as compared with light control ( $14\%$ ,  $p < 0,14$ ). 24 h later after the beginning of the experiment the observed  $^3\text{H}$ -GLU binding

in all samples is in the range of initial values but again this parameter is higher in the IMHV of the left hemisphere of imprinted chicks as compared to its light control ( $37.7 \pm 10.4\%$ ,  $p = 0.02$ ), whereas the IMHV of the right one does not differ from its light control. 3 hours later after the additional training the sharp increase in AP7 displacable  $^3\text{H}$ -GLU binding takes place in both hemispheres of imprinted birds, but not in light exposed ones. The increase in binding in the IMHV of the left hemisphere as compared to its light control comprises  $180 \pm 13\%$ , ( $p < 0.001$ ) and in the right one  $122 \pm 21\%$ , ( $p < 0.001$ ).

Changes in AMPA Sensitive  $^3\text{H}$ -GLU Binding After Imprinting and First Light Exposure. Fluctuation of the AMPA displacable  $^3\text{H}$ -GLU binding completely coincides with the changes of AP7 displacable binding in imprinted as well as in light control groups (fig. 1b). In the case of 24 hours after the beginning of experiment binding in the left IMHV of the imprinted chicks exceeds not only his corresponding light control but even his right counterpart by  $19 \pm 7\%$ , ( $p < 0.01$ ).

## DISCUSSION

Preliminary characterization of AP7 and AMPA sensitive  $^3\text{H}$ -GLU binding sites in IMHV membranes of dark control chicks revealed that there is no any

difference between the left and right hemispheres in the affinity to  $^3\text{H}$ -GLU, whereas the difference exists in the number of available binding sites. The value

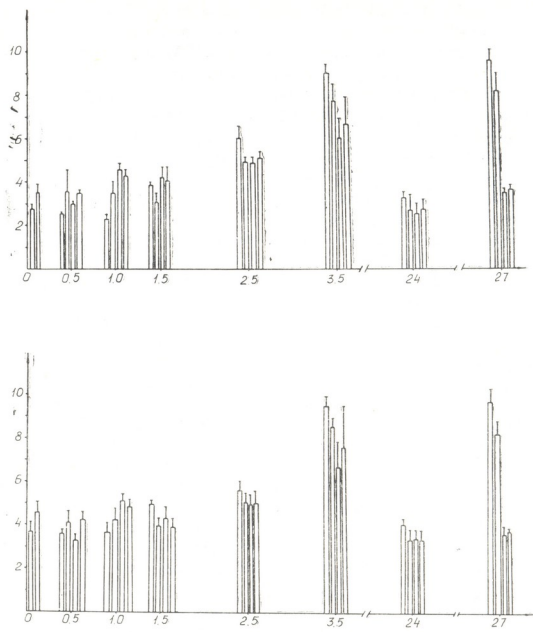


Fig. 1

Fig. 1. Changes in AP7 (1A) and AMPA sensitive (1B)  $^3\text{H}$ -GLU binding of chick brain IMHV membranes after imprinting session and first light exposure: vertical axis represents bound  $^3\text{H}$ -GLU in  $\mu\text{m}/\text{mg}$  protein and horizontal axis time in hours after the beginning of the experiment. For the time point the data are shown in the following order (from left to right): IMHV of the left hemisphere, dark control group; IMHV of the right hemisphere, dark control group; For the any other time point data are shown in the following order (from left to right): IMHV of the left hemisphere, imprinted group; IMHV of the right hemisphere, imprinted group; IMHV of the left hemisphere, light control group; IMHV of the right hemisphere, light control group

$B_{\text{max}}$  for both, AP7 and AMPA sensitive  $^3\text{H}$ -GLU binding is higher correspondingly by 30% and by 25% as compared to the left one. IMHV of the dark control chicks right hemisphere also exceed the left one by the  $^3\text{H}$ -dihydroalprenolol binding sites [35]. In male chickens there is a transient asymmetry since by day

21, in the visual projections from the thalamus to the hyperstriatum; there are more contralateral projections from the left site of thalamus to the right hyperstriatum than from the right side of the thalamus to the left hyperstriatum [1, 4, 32]. Our studies were carried out with the approximately equa-

amount of male and female chicks. The observed asymmetry in the values of  $B_{max}$  for various receptors possibly reflects in some way the asymmetry in the visual projections of the thalamofugal pathway.

Successful investigation of biochemical changes occurring during the memory traces consolidation greatly depends on the existence of adequate control. Due to our experimental conditions process of imprinting at the same coincides with the first light exposure. Several biochemical changes take place in the dark reared rats [6, 7, 33, 36] and chicks [13] on the first exposure to light. Investigation of  $^3H$ -dihydroalprenolol binding and noradrenaline level changes after visual imprinting in chicks revealed that many changes take place also in light control group [34, 35]. Light control group of chickens are exposed in their boxes to overhead light illumination, whereas the animals of imprinted group are receiving more complex visual stimulation including information from moving object, from colour and shape of this object, from floor of a particular texture of the training apparatus etc. No doubt the chick learns about all this things. Therefore we are suggesting that light control group is necessary but not sufficient control to detect imprinting memory formation specific biochemical changes. The existence of the initial asymmetry in ligand binding parameters makes senseless direct comparison of the left and right hemispheres. More probably for this purpose it is more desirable to operate with data expressed as a percentage changes relative to initial values.

Our experiments revealed that AP7 and AMPA displaceable  $^3H$ -GLU binding in the chickens IMHV is also influenced by the first light exposure. Increase in ligand binding takes place first of all in this group and after a short break continues for additional two hours resulting in 2-fold increase of this parameter. It is interesting that light exposure second

session 24 hours later after the first one induces only ~40% increase in AP7 (and not AMPA) displaceable binding outlining the drastic influence of the first light exposure. During the time interval 2,5—3,5 hours after the beginning of experiment AP7 and AMPA sensitive  $^3H$ -GLU binding in the IMHV of the left hemisphere of imprinted chickens exceeds the corresponding light control value and also its right counterpart by an increase in binding as compared to initial parameters (data not shown). 24 hours later when the effect of first light exposure is already dissipated some part of this increased binding as compared to corresponding light controls and the right IMHV of imprinted chicks (if data are expressed relative to initial values) is observed only in the left IMHV of trained birds. Taken all this together we are suggesting that this increased and persisting for 24 hours binding in the left IMHV of the imprinted birds is not a side effect of an experiment but may be attributed to some imprinting information storage in chicks. Additional training and light exposure session induces sharp increase of binding in imprinted group (more strongly expressed in the left IMHV) and not in light control ones, additionally supporting our suggestion.

Taking into account the values of  $K_D$  for AP7 and AMPA sensitive  $^3H$ -GLU binding (in the range of 100 nM) and saturating concentrations of radioligand in experiments, it is likely that fluctuation in binding is due to any changes in the number of available binding sites.

Our experiments revealed that after imprinting training and first light exposure the fluctuation in AP7 and AMPA sensitive  $^3H$ -GLU bindings in the chick IMHV coincide with each other. As studies in the rat and human brain have shown that NMDA and AMPA receptors have similar distributions in many areas, and as a consequence of physiolo-





gical studies demonstrating an interaction, it has been proposed that AMPA receptors may sometimes function in concert with NMDA receptors [10,20—22,28]. Present data support this proposal.

The NMDA and AMPA receptors seem to have a critical role in the processes of long-term potentiation [2,8,11,24,30]. Our experiments provide some data on their involvement also in processes of memory formation in chicks.

As it was already mentioned McCabe and Horn [26] demonstrated the increase in the number of NMDA recep-

tors of the chick left IMHV as a consequence of imprinting learning. Due to differences in experimental conditions; training procedure, time intervals, membrane fractions etc., it is quite difficult to have a direct comparison of these two investigations. In general our results are in agreement with above mentioned ones on the increase in NMDA receptors after imprinting training and also in addition outlines the increase of AMPA receptors in imprinting information storage processes.

REFERENCES

1. Adret P., Rogers L. J. *Brain Res.*, 478, 59—73, 1989.
2. Artola A., Singer W. *Nature*, 330, 288—293, 1987.
3. Baudry M. J., Lynch G. J. *Neurochem.*, 36, 811—820, 1981.
4. Boxer B. J., Stanford D. *Exp. Brain Res.*, 57, 494—498, 1985.
5. Bradley P., Horn G., Bateson P. *Exp. Brain Res.*, 41, 115—120, 1981.
6. Burgoyne R. D., Rose S. P. R., J. *Neurochem.*, 34, 510—517, 1980.
7. Burgoyne R. D., Rose S. P. R., Harding S. J. *Neurochem.*, 36, 2089—2091, 1981.
8. Clino H. T., Debski E. A., Constantine-Patton M. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 84, 4342—4345, 1987.
9. Collingridge G. L., Kehe S. J., McLennan H., *J. Physiol.*, 334, 19—31, 1983.
10. Cotman C. W., Monaghan D. T., Ottersen O. P., Storm-Mathisen J., *Trends Neurosci.*, 10, 273 — 279, 1987.
11. Davies S. N., Lester R. A. J., Royman K. G., Collingridge G. L., *Nature*, 338, 500—503, 1989.
12. Fonnun F. J. *Neurochem.*, 42, 1—11, 1984.
13. Guido M. E., Caputto B. L. J. *Neurochem.*, 55, 1855—1830, 1990.
14. Harris E. W., Canong A. H. and Cotman C. W., *Brain Res.*, 323, 132 — 137, 1984.
15. Henley J. M., Moratello R., Hunt S. P., Barnard E. A. *Eur. J. Neurosci.*, 1, 516—523, 1989.
16. Henley J. M., Barnard E. A. *Neurosci., Lett.*, 116, 17—22, 1990.
17. Hess E. H. *Science*, 130, 133—141, 1959.
18. Horn G., *Memory, Imprinting and the Brain*. Clarendon., Oxford, 1985.
19. Horn G., Bradley P., McCabe B. J. *J. Neurosci.*, 5, 3161—3168, 1985.
20. Jansen K. L. R., Dragunow M., Faull R. L. M. *Brain Res.*, 482, 174 — 178, 1988.
21. Jansen K. L. R., Faull R. L. M., Dragunow M. *Neuroscience*, 32, 587—607, 1989.
22. Jansen K. L. R., Faull R. L. M., Dragunow M. *Neurosci. Lett.*, 108, 53—57, 1990.
23. Johnson J. L. *Progr. Neurobiol.*, 10, 155—202, 1978.
24. Kaver J. A., Malenka R. C., Nicoll R. A. *Neuron*, 1, 911—917, 1988.
25. Kleinsmidt A., Bear M. F., Singer W., *Science*, 233, 355—358, 1987.
26. McCabe B. J., Horn G. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 85, 2849—2853, 1988.
27. McPherson G. A. *KINETIC, EBDA, LIGAND, LOWRY; A Collection of Radioligand Binding Analysis Programs*, Elsevier Science Publishers BV, Netherlands, 1985.
28. Monaghan D. T., Bridges R. J., Cotman C. W. *Annual Rev. Pharmacol. Toxicol.*, 29, 335—402, 1989.
29. Morris R. G. M., Anderson E., Lynch G., Baudry M. *Nature*, 319, 774—776, 1986.
30. Muller D., Joly M., Lynch G. *Science*, 242, 1694—1697, 1988.
31. Peterson G. L. *Anal. Biochem.*, 83, 329—333, 1977.
32. Rogers L. J., Sink H. S. *Exp. Brain Res.*, 70, 378—384, 1988.
33. Rose S. P. R., Stewart M. G. *Nature*, 271, 169—170, 1978.



34. Solomonias R. O., Machaidze G. G., Sobchinskaya N. M., Mikeladze D. G. *Neirochimia USSR* 1, 8, 20—27, 1989.
35. Solomonias R. O., Adamia S. O., Sobchinskaya N. M., Mikeladze D. G., *Neirochimia [USSR]*, 8, 541—545, 1989.
36. Stewart M. G., Rose S. P. R. *J. Neurochem.*, 30, 595—599, 1978.
37. Watkins J. C., Evans R. H. *Annual Rev. Pharmacol. Toxicol.*, 21, 165—204, 1981.
38. Watkins J. C., Krosgaard-Larsen P., Honore T. *Trends Pharmacol.*, 11, 25—33, 1990.

**წიწილების თავის ტვინის მემბრანებთან <sup>3</sup>H-გლუტამატის დაკავშირების ცვლილებანი მხედველობითი იმპრინტინგის შემდეგ**

რ. სოლომონია, ს. ადამია, დ. მიკელაძე

საქართველოს მეცნიერებათა აკადემიის ი. ბერტაშვილის სახელობის ფიზიოლოგიის ინსტიტუტი, თბილისი

**რ ე ზ ი უ მ ე**

მთელი რიგი მონაცემები მიუთითებენ, რომ წიწილების თავის ტვინის მარცხენა ნახევარსფეროს ვენტრალური ჰიპერსტრიატუმის მედიალური და ინტერმედიალური ნაწილი (ეკმი) ასრულებს გადაწყვეტ როლს მხედველობითი იმპრინტინგის ინფორმაციის შენახვაში. ნმდა და α-ამინო-3-ჰიდროქსი-5-მეთილიზოქსაზოპროპიონის მეავის (ამპმ) რეცეპტორები; სპეციფიური ლიგანდები: 2-ამინო-ფოსფოპეტანის მეავის (აფ7) და ამპმ როგორც გამომკველების საშუალებით შესწავლილ იქნა <sup>3</sup>H-გლუტამატის დაკავშირების ცვლილებანი ეკმი-ის მემბრანებთან. ექსპერიმენტის თავისებურებებთან დაკავშირებით ცდები ტარდებოდა წიწილების 3 ჯგუფზე; იმპრინტირებულზე, პირველი სინათლით ექსპოზირებულზე (სინათლის საკონტროლო ჯგუფი) და სიბნელის საკონტროლოზე. <sup>3</sup>H-გლუტამატის დაკავშირების კინეტიკური პარამეტრების შესწავლამ გამოავლინა საწყისი ასიმეტრია ტვინის ნახე-

ვარსფეროებს შორის; დაკავშირებას ადგილების მაქსიმალური რიცხვი B<sub>max</sub> მეტია მარჯვენა ნახევარსფეროს ეკმი უბანში მარცხენასთან შედარებით, როცა დისოციაციის კონსტანტის მიხედვით ისინი ერთმანეთისაგან არ განირჩევიან. ექსპერიმენტის დაწყებიდან 3.5 საათის შემდეგ ლიგანდის დაკავშირება როგორც იმპრინტირებულ ასევე სინათლის საკონტროლო ჯგუფებში მაქსიმალურ მნიშვნელობებს აღწევს, მაგრამ დასწავლილი წიწილების მარცხენა ნახევარსფეროს ეკმი უბანში გლუტამატის დაკავშირება აღემატება შესაბამის კონტროლს. ნაწილი ამ განსხვავებისა რჩება, როგორც მინიმუმ 24 საათის განმავლობაში. სავარაუდოა, რომ ნეიროტრანსმიტერის დაკავშირების მომატება არ წარმოადგენს ექსპერიმენტის გვერდით ეფექტს, არამედ განპირობებულია იმპრინტირებულ-მეხსიერების კვალის კონსოლიდაციის პროცესებით.

**ИЗМЕНЕНИЯ СВЯЗЫВАНИЯ <sup>3</sup>H-ГЛЮТАМАТА С МЕМБРАНАМИ МОЗГА ЦЫПЛЯТ ПОСЛЕ ЗРИТЕЛЬНОГО ИМПРИНТИНГА**

Р. О. СОЛОМОНИЯ, С. О. АДАМИЯ, Д. Г. МИКЕЛАДЗЕ

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

**Резюме**

Известно, что интермедиальной и медиальной части вентрального гиперстриатума (ИМВГ) левого полушария цыплят принадлежит основная

роль в хранении информации зрительного импринтинга. Связывание <sup>3</sup>H-глутамата с мембранами ИМВГ было исследовано с применением специ-

фических лигандов к НМДА и  $\alpha$ -амино-3-гидрокси-5-метилизоксапропионовой кислоты (АМПК); 2-амино-7-фосфо-гептановой кислоты (АФ7) и АМПК. В соответствии с особенностями экспериментальных условий исследования проводились на трех группах цыплят: импринтированных, световых контрольных и темновых контрольных. Определение кинетических характеристик связывания  $^3\text{H}$ -глутамата показало, что наблюдается изначальная асимметрия между полушариями головного мозга цыплят: для обоих рецепторов максимальное число мест связывания, величина  $B_{\text{max}}$  выше в ИМВГ правого полу-

шария по сравнению с левым, в то время как по показателю константы диссоциации они не отличаются друг от друга. Спустя 3,5 ч после начала эксперимента связывание достигает максимальных значений как в импринтированных, так и в световых контрольных цыплятах, но ИМВГ левого полушария обученных цыплят по исследуемому параметру превосходит соответствующие контрольные. Определенная часть разницы не исчезает (как минимум) в течение 24 ч. Предполагается, что увеличение связывания нейротрансмиттера не является побочным эффектом эксперимента, а обусловлено процессами консолидации следов памяти-импринтинга.

УДК 547.97:581.142

БИОХИМИЯ

## УСТРАНЕНИЕ ИНГИБИРУЮЩЕГО ЭФФЕКТА КСЕНОБИОТИКОВ, ПУТЕМ УСКОРЕНИЯ ИХ ГИДРОКСИЛИРОВАНИЯ, НА БЕЛОК- И РНК- СИНТЕЗИРУЮЩУЮ АКТИВНОСТЬ РАСТЕНИЙ

М. И. Балашвили, М. Ш. Гордезиани, Г. А. Хатисашвили,  
Р. К. Папелишвили, Д. И. Джохадзе

*Институт биохимии растений им. С. В. Дурмишидзе АН Грузии, Тбилиси*

Поступила в редакцию 15.05.91

Исследовали влияния некоторых ксенобиотиков на белок- и РНКсинтезирующую активность (БСА и РНК-СА) в изолированных ядрах, хлоропластах, а также в гомогенате листьев райграса. Выявлен сильный ингибирующий эффект, который полностью или значительно устраняется с помощью NADPH. Предварительное выращивание растений с ксенобиотиками способствует индукции монооксигеназ и, следовательно, устранению ингибирования исследуемых активностей.

Ксенобиотики действуют на активность целого ряда ферментов и тем самым вызывают существенные изменения в реакциях обмена. Воздействие может происходить по типу торможения или активирования ферментов. Многие ксенобиотики обладают мутагенными свойствами, поэтому в регуляцию биосинтеза ферментов вовлекаются механизмы индукции или репрессии, т. е. система генетического контроля [6].

Ферментная система, окисляющая ксенобиотики, в основном локализована в мембранах эндоплазматического ретикулума. Природа распорядилась так, что «ядовитое вещество обезвреживается на дальних подступах к информационному центру клетки — ядру» [8]. Это — идеальный случай и подразумевает наличие мощной энзиматической активности, обеспечивающей полную реализацию функции детоксикации. В реальных условиях картина должна выглядеть иначе, так как в клетке часто наступает состояние временного насыщения ксенобиотиком. Нет сомнения, что в этом случае определенная часть

его «проскальзывает» через детоксикационный барьер, неизменно достигая ядра. Тут возможны два варианта: 1. ксенобиотик реагирует с генетическим аппаратом и активирует его, заставляя индуцировать ферменты, участвующие в его окислении. В пользу такого утверждения свидетельствуют экспериментальные данные, полученные преимущественно на животных объектах [7, 10, 13, 14]; 2. ксенобиотик действует на генетический аппарат и обратимо ингибирует его. Для сохранения стабильности обменных реакций в таком случае необходимо каким-либо способом неизменно ускорять полное окисление ксенобиотика.

Целью настоящей работы являлось выяснение действия некоторых ксенобиотиков на БСА и РНК-СА в листьях райграса (*Lolium multiflorum italicum*) и установление изменения характера воздействия в условиях ускорения окислительных процессов самих ксенобиотиков.



Объектом исследования служили свежесобранные листья 7—10-дневных проростков райграса, выращенные на водопроводной воде. Листья гомогенизировали в среде выделения следующего состава: сахароза—0,4 М; трис-НСl рН 7,8—0,05 М; КСl и MgCl<sub>2</sub> по 0,01 М; 2-меркаптоэтанол—0,004 М; центрифугировали при 1000 г в течение 10 мин. Осадок суспендировали в 5 мл среде выделения и вновь центрифугировали при 1000 г 20 мин в градиенте сахарозы (1,4; 1,1; 1,0; 0,8; 0,6 М). В слое 1,0 М сахарозы задержались хлоропласты, а в осадке—ядра с примесью хлоропластов, которые в дальнейшем удаляли с помощью тритона X-100. Ядра и хлоропласты суспендировали в малом объеме 0,25 М раствора сахарозы, содержащего трис-НСl рН 7,8—0,05 М и MgCl<sub>2</sub>—0,01 М [4, 11]. Гомогенат получали в той же среде выделения, концентрируя затем диализом в полиэтиленгликоле (М. В. 35.10<sup>3</sup>) в течение 3 ч.

Ускорение окисления ксенобиотика с помощью NADPH (6 мМ) регистрировали флюорографически (биоэнергометр «Дигоми», разработка СКБ НП АН РГ). С этой целью была применена ячейка открытого типа емкостью 4 мл, снабженная мембранным электродом для измерения потребления кислорода воздуха, контролируемая перемешиванием [9].

О БСА судили по включению радиоактивной метки <sup>14</sup>С-гидролизата белка хлореллы в белковую фракцию органелл или гомогената. В аликвотах суспензии (каждый образец в двух параллельных пробах) добавляли 0,5 мл 0,25 М сахарозы с 0,1 М фосфатным буфером; 0,4 мл 0,1 М раствора глюкозы, содержащей 0,025 М MgCl<sub>2</sub> и 0,005 М NaCl; 1 мл раствора 2 мМ СаCl<sub>2</sub> в 0,25 М сахарозе и 0,1 мл 1 мкКи <sup>14</sup>С-гидролизата белка хлореллы. Пробы инкубировали в течение 1 ч. Реакцию останавливали охлаждением и добавлением 2 мл

20%-ного раствора ТХУ, содержащего 3%-ный гидролизат казеина. После кратковременного выдерживания смесь центрифугировали, осадок ресуспендировали в 10%-ном растворе ТХУ с казеином и нагревали 15 мин при 90°. После охлаждения осадки приносили на мембранные фильтры (образца HUF5 ЧСФР с диаметром пор 0,23 мк), промывали под вакуумом 4 раза 5 мл порциями 5%-ного раствора ТХУ с казеином [12]. Радиоактивность образцов считали на сцинтилляционном счетчике ЛКВ (Швеция с эффективностью 95%).

РНК-СА оценивали по включению <sup>14</sup>С-GTP во вновь синтезированную РНК. Инкубационная смесь содержала трис-НСl рН 7,8—0,05 М; MgCl<sub>2</sub> 0,002 М АТФ, УТР и GTP по 0,2 мМ; 2-меркаптоэтанол—4 мМ; <sup>14</sup>С-GTP—0,05 мМ, уд. активность 508 мКи/мМ. Пробы инкубировали в течение 30 мин (ядра при 35°, хлоропласты при 25°, а гомогенат при 37°). Реакцию останавливали охлаждением до 0°, добавляли 200 мкг бычьего сывороточного альбумина и осаждали добавлением 5 мл 5%-ного раствора ТХУ. После выдерживания проб на холоду в течение 30 мин, образцы промывали 5%-ным ТХУ [5]. Радиоактивность проб измеряли на сцинтилляционном счетчике ЛКВ.

В качестве ксенобиотиков были использованы аминопирин (АП), N,N-диметиланилин (ДМА), анилин (АН), 3,4-бенз(α)пирен (БП) и 3-метилхолантрен (МХ).

В работе применяли: NADPH, АТФ, СТР и УТР фирмы «Reanal» (Венгрия), <sup>14</sup>С-GTP и <sup>14</sup>С-гидролизат белка хлореллы («UVVVR» ЧСФР), полиэтиленгликоль фирмы «Loba» (Австрия), ДМА и БП фирмы «Sigma» (США), МХ и меркаптоэтанол фирмы «Fluca» (Швейцария). Остальные реактивы отечественного производства квалификации х.ч. или ч.д.а. Перед использованием ДМА и АН дважды перегоняли.

## РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

Вначале была проверена способность клеточного гомогената окислять испытанные нами ксенобиотики. Оказалось, что непосредственное до-

бавление ксенобиотика без косубстрата не приводит к их гидроксигированию, так как не регистрируются заметные изменения в скорости



потребления кислорода. Данный эффект обнаруживается лишь при предварительном или совместном внесении с ксенобиотиком NADPH. Кофермент как бы подготавливает NADPH-зависимую редокс-цепь для осуществления акта гидроксилирования (N-деметилирования), или способствует переключению цитохрома P-450 с «эндогенного» на «экзогенный» режим работы [2]. С другой стороны, опыты, проведенные на изолированных ядрах и хлоропластах, показали, что добавление NADPH не оказывает никакого влияния на БСА и РНК-СА.

В этих же клеточных фракциях были испытаны обычные субстраты микросомального окисления — АП и ДМА в разных концентрациях — для выявления характера их влияния на БСА. В обоих случаях происходило резкое снижение данной активности. Особенно сильным ингибирующим действием характеризуется ДМА, в присутствии которого в хлоропластах БСА полностью исчезает (табл. 1).

Таблица 1

Изменение БСА в изолированных ядрах и хлоропластах под влиянием разных концентраций АП и ДМА\*

Вариант опыта	Ядра	Хлоропласты
	Радиоактивность белка, $10^3$ имп/мин на 10 мкг ДНК	Радиоактивность белка, $10^3$ имп/мин на 10 мкг ДНК
Контроль	33,3	35,5
+АП (0,5·10 <sup>-3</sup> М)	18,8	27,4
+АП (2,0·10 <sup>-3</sup> М)	13,8	11,0
+ДМА (0,5·10 <sup>-3</sup> М)	18,1	10,4
+ДМА (10 <sup>-3</sup> М)	9,3	4,7
+ДМА (2,0·10 <sup>-3</sup> М)	4,6	0,8

\* В таблицах приводятся усредненные данные с трех опытов.

Сравнительно меньший ингибирующий эффект АП (в эквимолярном отношении) в ядрах и хлоропластах, видимо, обусловлен его замедленной доступностью к БС-центрам. Молекула АП содержит 3 ионообразующих центра. В связи с этим его заряд в форме соли почти вдвое больше, чем у ДМА, содержащем 1 ионообразующий центр. Следовательно,

проницаемость АП в гидрофобных мембранах должна быть гораздо более низкой.

Мощным ингибирующим действием на БСА и РНК-СА в гомогенате характеризуется ДМА, АН, БП и МХ. Степень снижения активности для обоих процессов колеблется в довольно широком диапазоне. При этом наблюдается заметная, по сравнению с БСА, повышенная чувствительность РНК-СА к подавляющему влиянию со стороны испытуемых ксенобиотиков (табл. 2).

Под влиянием NADPH ингибирующий эффект ДМА на БСА и РНК-СА практически исчезает. Проведенными на растительных объектах опытами нам удалось показать, что первичным актом окислительного катаболизма ДМА является NADPH-зависимое N-деметилирование [1]. Эта скоростьлимитирующая реакция всего сложного процесса окисления данного ксенобиотика, протекающая с помощью NADPH со скоростью, которая обуславливает его быструю деградацию и снятие подавляющего воздействия на БСА и РНК-СА.

Иная картина наблюдается по отношению АН, БП, и МХ: хотя в присутствии NADPH и в этих случаях происходит значительное уменьшение ингибирующего действия на БСА и РНК-СА, однако они не достигают контрольного уровня. Полученные результаты легко объяснить, учитывая, что NADPH-зависимое окисление этих ксенобиотиков в растениях осуществляется по сравнению с ДМА с меньшей скоростью. Здесь немаловажную роль должна играть степень гидрофобности ксенобиотика и его сродство к цитохрому P-450. Так, например, кинетический анализ NADPH-зависимого окисления в микросомальной фракции корней сои показал, что сродство гемопротенда к ДМА восемь раз больше ( $K_m = 0,7 \cdot 10^{-6}$ М), чем у АН ( $K_m = 6,2 \cdot 10^{-6}$ М) [3].

Для установления эффекта индукции монооксигеназ на БСА и РНК-СА в среду выращивания за 72 ч до опыта вносили ДМА и БП в конечными концентрациями по  $10^{-3}$  М. Полученные результаты приведены в табл. 3.

Устранение с помощью NADPH ингибирующего влияния ксенобиотиков на БСА и РНК-СА в гомогенате листьев



Вариант опыта	БСА	РНК-СА
	Радиоактивность белка, $10^3$ <i>цпм/мин</i> на 10мкг ДНК	Радиоактивность белка, $10^3$ <i>цпм/мин</i> на 10мкг ДНК
Контроль	1,60	2,70
+ ДМА ( $10^{-3}$ М)	0,97	1,10
+ ДМА ( $10^{-3}$ М) + NADPH	1,64	2,50
Контроль	0,88	2,70
+ АН ( $10^{-3}$ М)	0,27	0,84
+ АН ( $10^{-3}$ М) + NADPH	0,52	2,20
+ БП ( $10^{-3}$ М)	0,37	0,80
+ БП ( $10^{-3}$ М) + NADPH	0,72	2,00
+ МХ ( $10^{-3}$ М)	0,26	0,60
+ МХ ( $10^{-3}$ М) + NADPH	0,60	2,15

Таблица 3

Эффекты воздействия ксенобиотиков и NADPH на БСА и РНК-СА в гомогенате листьев райграсса, предварительно выращенного на ДМА и БП\* (количество ДНК соответствует 30мкг на пробу)

Вариант опыта	Выращенные на ДМА		Выращенные на БП	
	БСА	РНК-СА	БСА	РНК-СА
Контроль	3,40	2,05	2,10	1,53
+ ДМА	2,20	1,61	0,46	0,91
+ ДМА + NADPH	3,42	1,95	1,82	1,38
+ БП	1,50	0,92	1,20	0,80
+ БП + NADPH	3,32	1,75	1,96	1,27
+ МХ	1,10	0,88	0,92	0,46
+ МХ + NADPH	2,84	1,96	1,78	1,49

\* Концентрации ксенобиотиков, NADPH, а также значимости БСА и РНК-СА те же, что и в табл. 2

При инкубации гомогената листьев растений с ДМА, которые предварительно выращивались на ДМА, БСА еще более подавляется. В то же время значительно снижено его ингибирующее воздействие на РНК-СА. В отмеченных образцах БП и МХ по отношению к обоим процессам сохраняют свое ингибирующее влияние, несмотря на то, что в случае МХ наблюдается тенденция уменьшения его подавляющего воздействия.

Рассмотренная закономерность распространяется и на растения, выращенные на БП. Ингибирующее воздействие ДМА и МХ и в этом случае сохранено, хотя наблюдается заметное уменьшение ингибирующего влияния БП на БСА и РНК-СА. Происходит уменьшение подавляющего воздействия БП на БСА и РНК-СА. В данных условиях не выявляется эффект индукции монооксигеназ, так как ингибирование остается на вы-

соком уровне. Это можно объяснить насыщением ксенобиотиками гомогената на фоне дефицита NADPH.

При внесении в инкубационную среду NADPH в гомогенатах листьев растений, выращенных на ДМА и БП, ингибирующее влияние БП и МХ по сравнению с образцами растений, выращенными на воде, продолжает понижаться. Этот результат позволяет предположить, что происходит индукция окислительных ферментов— монооксигеназ.

В исследуемых образцах растений, выращенных на БП, отмечается возрастание ингибирующего воздействия ДМА на БСА и РНК-СА, т. е. часть данного ксенобиотика остается непревращенной. Это, возможно, вызвано специфической конфигурацией активных центров БП-индуцированных монооксигеназ, когда ксенобиотик преимущественно превращается по типу метаболизма индуктора.

В наших опытах проявляется кажущееся несоответствие между ингибирующим эффектом ксенобиотиков на БСА и РНК-СА и способностью этих веществ вызывать индукцию монооксигеназ. На наш взгляд, мгновенный контакт ксенобиотика с

генетическим аппаратом вызывает блокирование его активности. Преподление времени воздействия, видимо, приводит к метаболическому сдвигу адаптационного характера, в силу чего ксенобиотик-ингибитор постепенно становится индуктором.

Таким образом, на основе проведенных исследований показано, что использованные ксенобиотики оказывают ингибирующее воздействие на БСА и РНК-СА растительной клетки. Значительное понижение степени ингибирования происходит в условиях ускорения процессов окисления ксенобиотиков. Это достигается активированием монооксигеназ и путем усиления их новообразования. Для предотвращения ингибирующего влияния ксенобиотиков необходимым условием является постоянное присутствие достаточного количества NADPH. Следовательно, защита метаболических путей от ксенобиотиков и контроль над процессом детоксикации в основном должны осуществляться NADPH-генерирующей системой, в частности в растениях с фотосинтезом и гексозомонофосфатным циклом.

## ЛИТЕРАТУРА

1. Гордезнани М. Ш., Дурмишидзе С. В., Курашвили Л. К. Сообщения АН ГССР, 96, 3, 717—720, 1979.
2. Гордезнани М. Ш., Дурмишидзе С. В., Хатисашвили Г. А., Адамия Г. С., Ломидзе Э. П. ДАН СССР, 295, 6, 1491—1493, 1987.
3. Гордезнани М. Ш., Хатисашвили Г. А., Адамия Г. С., Ломидзе Э. П. Сообщения АН ГССР, 123, 1, 161—164, 1987.
4. Джохадзе Д. И., Балашвили М. И. Биохимия, 41, 1, 161—165, 1976.
5. Джохадзе Д. И., Балашвили М. И. Физиол. раст., 32, 5, 830—85, 1985.
6. Дурмишидзе С. В. Прикл. биохим. и микробиология, 18, 6, 741—750, 1982.
7. Сергеев П. В., Ведерникова Н. Н., Майский А. И., Арчаков А. И. Фармакология и токсикология, 36, 3, 355—371, 1973.
8. Скулачев В. П. Аккумуляция энергии в клетке, М., «Наука», 1969.
9. Хатисашвили Г. А., Адамия Г. С., Гордезнани М. Ш., Ломидзе Э. П., Брискер В. Л. Сообщения АН ГССР, т. 123, 3, 621—624, 1986.
10. Argyris T., Heineman R. Exp. and Mol. Pathol., 22, 3, 335—341, 1975.
11. Bottomley W., Spenser D., Wheller A., Whitfield P. Arch. Biochem. and Biophys., 143, 1, 269—275, 1971.
12. Burdman J. A., Jorgmey L. J. J. Neurochem., 16, 4, 493—500, 1969.
13. Jacob S. T., Sharf M. B., Vesser E. S. Proc. Nat. Acad. Sci. USA, 71, 3, 704—707, 1974.
14. Louis—Ferdinand R. T., Fuller G. C. Toxicol. and Appl. Pharmacol., 23, 5, 492—500, 1973.

მცენარეებში ცილა- და რნმ-მასინთეზირებელ აქტივობებზე  
ქსენობიოტიკების მაინჰიბირებელი ეფექტის აცილება  
მათი დაშანგვის გზით

მ. ბალაშვილი, მ. გორდეზიანი, გ. ხატისაშვილი,  
რ. პაპელიშვილი, დ. ჯოხაძე

საქართველოს მეცნიერებათა აკადემიის ს. ღურშიშვილის სახელობის  
მცენარეთა ბიოქიმიის ინსტიტუტი, თბილისი

რ ე ზ ი უ მ ე

კონდრის ფოთლების იზოლირებულ  
ბირთვებში, ქლოროპლასტებში და აგრე-  
თვე პომოგენატებში გამოკვლეულია ზო-  
გიერთი ქსენობიოტიკის გავლენა ცილა-  
და რნმ-მასინთეზირებელ აქტიობაზე. გა-  
მოვლენილია ძლიერი ინჰიბიტორული

ეფექტი, რომელიც სრულად ან მნიშვნე-  
ლოვნად იხსნება NADPH-ით. ქსენობიო-  
ტიკებზე მცენარის წინასწარი გამოზრდა  
განაპირობებს ფერმენტ-მონოქსიგენაზე-  
ბის ინდუქციას და შესაბამისად შესწავ-  
ლილ აქტიობათა ინჰიბირების აცილებას.

## REMOVAL OF XENOBIOTIC INHIBITORY EFFECT BY ACCELERATION OF THEIR HYDROXYLATION ON PROTEIN AND RNA-SYNTHESIZING ACTIVITY IN PLANTS

M. BALASHVILI, M. GORDEZIANI, G. KHATISASHVILI,  
R. PAPELISHVILI, D. JOKHADZE

S. Durmishidze Institute of Plant Biochemistry, Georgian  
Academy of Sciences, Tbilisi

### Summary

The influence of some xenobiotics on  
protein and RNA-synthesizing activity in  
isolated nuclei, chloroplasts, also in ho-  
mogenate of raigrass leaves has been in-  
vestigated. The strong inhibitory effect that  
completely or considerably was removed

by NADPH, has been revealed. Prelimi-  
nary growing of plant with xenobiotics  
promote the induction of monooxygenase  
and removes the inhibition of investigated  
activities consequently.

УДК 577.1.214:576.315.45

БИОХИМИЯ

## ТРАНСКРИПЦИОННАЯ АКТИВНОСТЬ И УЛЬТРАСТРУКТУРА МОРФОЛОГИЧЕСКИ РАЗЛИЧНЫХ ТИПОВ ЯДРЫШЕК, ИЗОЛИРОВАННЫХ ИЗ ГЕПАТОЦИТОВ НОРМАЛЬНЫХ И ГЕПАТЭКТОМИРОВАННЫХ КРЫС

Д. В. Дзидзигури, П. В. Челидзе, М. А. Зарандия, Е. О. Черкезия,  
Г. Д. Туманишвили

*Тбилисский государственный университет*

Поступила в редакцию 20.04.92

Изучались изменения интенсивности синтеза РНК и ультраструктура функционально различных типов ядрышек гепатоцитов нормальных и гепатэктомированных белых беспородных крыс. Разработана новая тест-система для определения транскрипционной активности каждой конкретной модификации ядрышка. Установлено, что наиболее высокой транскрипционной активностью обладают ядрышки псевдонуклеолонемного типа, а не гипертрофированные нуклеолонемные ядрышки, как это считалось ранее.

Молекулярные процессы, связанные с биогенезом рибосом, проявляются в структурной организации ядрышка, и, таким образом, создается возможность наблюдения за экспрессией одного из главных звеньев генома эукариот *in situ*. По размерам ядрышка, а также по выраженности и топографическому соотношению ядрышковых компонентов судят об интенсивности синтеза, процессинга и транспорта прерибосом [6, 7, 9]. Несмотря на большое количество работ, посвященных этому вопросу, и большое количество обнаруженных фактов, многое еще остается неясным. Так, в литературе описано много самых разнообразных форм ядрышка, однако соответствие той или иной конкретной формы уровню транскрипции рРНК и другим процессам, протекающим в ядре, установлено далеко не для всех его структурных модификаций. Широко используемый

для решения этого вопроса метод автордиографии не дает точной характеристики транскрипционной активности различных модификаций ядрышка в пределах одного типа (например для многочисленных вариантов нуклеолонемных ядрышек [2]), поэтому решение этого вопроса требует новых подходов.

Известно, что при вступлении клеток в цикл скорость синтеза и транспорта РНК на разных этапах этого цикла неравномерна [7]. В частности, имеют место два неравных по величине пика транскрипционной активности [3, 1]. Принимая во внимание то, что до сих пор неизвестен вклад морфологически различных типов ядрышек в этот процесс, мы сочли необходимым изучить транскрипционную активность и ультраструктуру ядрышек, изолированных из печени нормальных и гепатэктомированных крыс.

### МЕТОДИКА

В работе использованы гепатоциты интактных и оперированных (удаление 2/3 печени) половозрелых белых беспородных крыс весом 100–120 г. Операции производили в одно и то же время суток — в 10 ч утра.



Взятие материала проводили сразу после декапитации животных. Ядра изолировали по методу Шово и соавт. [5]. Ядрышки выделяли по методу Буша и Сметаны [4]. Чистоту ядрышковой фракции проверяли в фазово-контрастном микроскопе, а в ряде случаев проводили электронно-микроскопические исследования.

Для изучения транскрипционной активности использовалась инкубационная смесь, содержащая в мкм: трис-НСI (рН — 8,3) — 5,0; MgCl<sub>2</sub> — 7,5; АТФ, ГТФ, УТФ — по 0,05; <sup>14</sup>C-УТФ — 0,0013 (удельная радиоактивность — 4,3 Свг/мМ). Ядра и ядрышки брали в количестве, соответствующем 120 и 70 мкг ДНК на пробу.

Для определения доли ядрышковой активности в общем синтезе РНК в инкубационную смесь добавляли бициклический октапептид α-амани-

#### РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

Полученные результаты подтвердили наличие вснышки транскрипционной активности в клетках печени после частичной гепатэктомии, образующей два пика на кривой интенсивности транскрипции соответственно на 6- и 22-й ч после операции (на 80% и 60% выше контроля — рис. 1). С целью определения

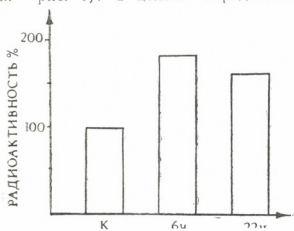


Рис. 1. Изменение интенсивности синтеза РНК в изолированных ядрах печени крысы в норме (К) и после частичной резекции (6 и 22-й ч после операции); по оси ординат—радиоактивность в процентах

доли ядрышковой полимеразы в этой суммарной активности была проведена серия опытов, в которых использовали бициклический октапептид α-аманитин, избирательно подавляющий II и III формы РНК-полимеразы. Как показали проведенные опыты, доля ядрышковой активности

тин (1 и 100 мкг на мл). Для проверки чувствительности метода суспензию изолированных ядрышек добавляли актиномицин-D в концентрации 0,5 мкг/мл и инкубировали в присутствии меченого предшественника в течение 5, 15 и 25 мин.

При подготовке материала для электронной микроскопии осадок ядрышек и кусочки печеночной ткани фиксировали в 2,5%-ном глутаровом альдегиде и 1%-ной четырехокиси осмия, приготовленных на 0,1 M фосфатном буфере. Обезвоженные в спиртах и ацетоне образцы заливали в эпон. Серийные ультратонкие срезы, приготовленные на ультратоме ЛКВ-III, окрашивали 5%-ным водным раствором уранилацетата и цитратом свинца. Срезы просматривали и фотографировали в электронном микроскопе «Hitachi HU. 12».

в норме на 6- и 22-й ч после операции составляла 60%, 86% и 65% соответственно (рис. 2). Исходя из этого закономерно заключить, что в реакцию, наступающую в ответ на частичную гепатэктомию, ядрышко вносит существенный вклад.

С колебаниями интенсивности транскрипции совпадает изменение ультраструктуры ядрышек гепатоцитов, исследование которых проводилось параллельно с изучением интенсивности транскрипции. Светооптическое изучение полутонких срезов показывает, что ядрышки покоящихся гепатоцитов со средним диаметром 2—2,5 мкм относятся к нуклеолонемному типу (рис. 3а). Резко меняется структура ядрышек печеночных клеток через 6 ч после операции, однако значение среднего диаметра ядрышка при этом меняется незначительно (рис. 3б). Практически во всех просматриваемых клетках наблюдается разрыхление нуклеолонемы и увеличение ее электронной плотности. Тяжи нуклеолонемы особенно четко выражены и сильно извиты. Нуклеолонема практически полностью состоит из плотного фибриллярного компонента (ПФК). РНП-гранул мало, либо они формируют небольшие скопления. Подобные ядрышки были

описаны ранее и названы псевдонуклеолонемными, в отличие от истинных нуклеолонемных ядрышек, для которых характерно умеренное раз-

добная модификация нуклеолонемного ядрышка в гепатоцитах в настоящее время описана не была.

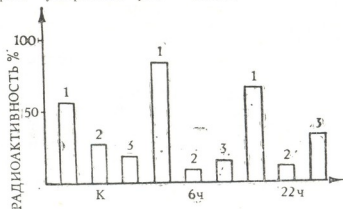


Рис. 2. Активность различных форм РНК-полимеразы (1—РНК-полимераза I, 2 — РНК-полимераза II, 3—РНК-полимераза III) в изолированных ядрах печени крысы в норме и после частичной гепатэктомии; по оси ординат—радиоактивность в процентах

витие нуклеолемы и богато представленный гранулярный компонент [2]. Следует отметить, что по-

Через 22 ч после удаления части печени также удается наблюдать отчетливые изменения ядрышка (рис.

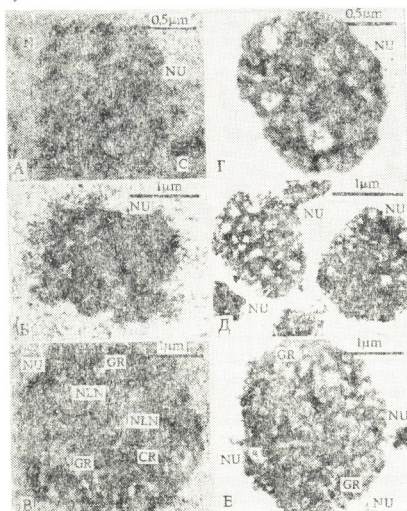


Рис. 3. Ультраструктура изолированных ядер (а, б, в) и ядрышек (г, д, е) в норме (а, г), на 6-й (б, д) и на 22-й (в, е) ч после частичной гепатэктомии: п—ядро, с—цитоплазма, пу—ядрышко, pln—нуклеолема, gr—гранулы



Зв). В первую очередь обращают на себя внимание крупные размеры ядрышек, увеличение их среднего диаметра до 3,5—4,0 мкм и гипертрофия гранулярного компонента. Для гипертрофированных ядрышек характерна более рыхлая упаковка нуклеолономных тяжей, вследствие чего наблюдаются заметное расширение вакуолей.

В литературе группу нуклеолономных ядрышек с развитой вакуолярной системой, характерных для гепатоцитов через 22 ч после частичной гепатэктомии, принято рассматривать как наиболее активную в отношении синтеза и процессинга рРНК. Их часто обнаруживают в низкодифференцированных и активно пролиферирующих клетках [10, 2]. Особенности ультраструктуры ядрышек через 22 ч после гепатэктомии убеждают в том, что всплеск активности транскрипции, наблюдающийся на этот срок после операции, имеет иную природу, чем повышение уровня транскрипции на 6-й ч и приводит к образованию псевдонуклеолономных ядрышек. Поскольку ПФК псевдонуклеолономных ядрышек содержит новообразованную пре-рРНК, можно предположить, что подобная модификация является результатом синтеза пре-рРНК. Кроме того, как уже отмечалось выше, в опытах с  $\alpha$ -аманитином было уста-

Для решения этого вопроса нами была предпринята попытка, изолировав ядрышек, разработать новую тест-систему для установления соответствия между ультраструктурой и функциональной активностью ядрышек. В наших опытах полностью подтвердилось предположение, что в процессе выделения структурная целостность ядрышка не нарушается, сохраняя такую же пространственную организацию компонентов, что и в целых клетках [8, 4]. Ультраструктура ядрышек в норме (рис. 3, г), а также через 6 и 22 ч после гепатэктомии (рис. 3, д, е) по своей организации не отличается от ядрышек *in situ*. В них легко идентифицируются все компоненты в тех же количественных и пространственных соотношениях. Кроме того, изолированные ядрышки сохраняют способность синтезировать РНК, чему, очевидно, способствует хорошая сохранность его структуры. Действительно, выделенные из нормальных гепатоцитов ядрышки обнаруживают достаточно высокую интенсивность включения меченого предшественника в кислотонерастворимую фракцию, которая практически не меняется при хранении при  $-10^{\circ}\text{C}$ . Такие ядрышки сохраняют способность реагировать на

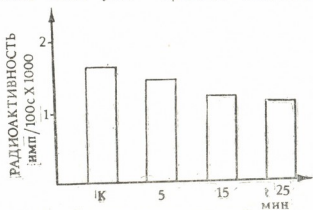


Рис. 4. Ингибирование транскрипционной активности в изолированных ядрышках печени крысы при инкубации с актиномицином D в течение 5, 15 и 25 мин; по оси ординат — радиоактивность в имп/100 с

новлено, что активация ядрышковой РНК-полимеразы на 6-й ч после операции превышает таковую на 22 ч. Однако функциональная активность ядрышек этой группы до последнего времени оставалась неизученной.

ингибирующее действие актиномицина D. При этом проявляется строгая корреляция между уровнем транскрипции, временем инкубации в присутствии антибиотика и концентрацией последнего (рис. 4).

Что касается транскрипции у гепатомированных животных, то у них наиболее активны псевдонуклеолозные ядрышки, изолированные через 6 ч после частичной резекции печени. В это время скорость включения  $^{14}\text{C}$ -УТФ по сравнению с контролем возрастает на 43% (рис. 5). Транскрипционная активность ядрышек, выделенных через 22 ч после операции, также выше, чем в интактной печени, но на 16% ниже активности, наблюдаемой на 6 ч (рис. 5).

Таким образом, разработанная тест-система подтвердила результаты, полученные нами (см. выше) и указывающие на то, что псевдонуклеолозная форма, возникающая на 6-й ч после операции, обладает более высокой транскрипционной активностью, чем гипертрофированные ядрышки (22 ч после резекции), в отличие от бытующего до сих пор мнения.

Вместе с тем, наблюдаемая на ультратонких срезах картина, свидетельствует о том, что в противоположность событиям, имеющим место на 6-й ч после операции, когда ско-

рость синтеза пре-рРНК максимальна, через 22 ч после операции наблюдается замедление транскрипции при одновременном усилении процес-

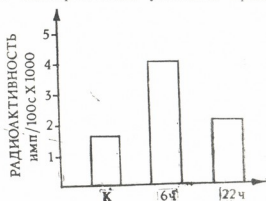


Рис. 5. Изменение транскрипционной активности изолированных ядрышек в интактной (К) и регенерирующей печени (6 и 22-й ч после операции)

синга пре-рРНК, содержащейся в составе нуклеолономы, на что указывает отчетливое развитие гранулярного компонента.

Таким образом, ультраструктура ядрышка с достаточно большой точностью коррелирует с функциональным состоянием клетки и может быть использована в качестве критерия для его характеристик на том или ином этапе ее функционирования.

## ЛИТЕРАТУРА

1. Дзидзигури Д. В., Гиоргобидзе Н. М., Кезели М. Р., Туманишвили Г. Д. Всес. симпозиум «Молекулярные и функциональные основы онтогенеза», Харьков, 1987.
2. Челидзе П. В., Зецепина О. В. Успехи совр. биол., 105, 2, 252—268, 1988.
3. Busch S., Chambon P., Mandell P., Weill S. D. Biochem. Biophys. Res. Commun., 7, 225—260, 1962.
4. Busch A., Smetana K. The Nucleolus, Acad. Press, New York, London, 575, 1970.
5. Chauveau J., Muller V., Rouiller C. Exp. Cell Res., 2, 11, 317—321, 1956.
6. Goessens G. Intern. Rev. Cytol., 87, 107—157, 1984.
7. Hadjiolov A. The nucleolus and ribosome biogenesis, Wien, New York, Springer Verlag, 1985, 268.
8. Harris C., Reddy J., Svoboda D. Exp. Cell Res., 51, 268, 174, 1968.
9. Sheer U., Benavente R. Biol. Assays, 12, 14—21, 1990.
10. Zaitsepina O. V., Hozak P., Babadjanyan D. P., Chentsov Yu. S. Biol. Cell., 62, 211—218, 1988.

ნორმალური და ჰეპატომატიზირებული ვირთავების  
ჰეპატოციტებიდან იზოლირებული მორფოლოგიურად  
განსხვავებული ტიპების ბირთვების ულტრასტრუქტურა  
და ტრანსკრიპციული აქტივობა

დ. ძიძიგური, პ. ხელიძე, მ. ჯარანდია, ე. ჩერკეზია, გ. თუმანიშვილი

თბილისის სახელმწიფო უნივერსიტეტი

რ ე ზ ი უ მ ე

შესწავლილ იქნა რნმ-ის სინთეზის ინტენსივობისა და ფუნქციურად განსხვავებული ტიპების ბირთვების ულტრასტრუქტურის ცვლილებები ნორმალური და ჰეპატომატიზირებული თეთრი უჯრო ვირთავების ჰეპატოციტებში. გამომუშავებულია ახალი ტესტ-სისტემა ბირთვების ყოველი კონკრეტული მოდიფიკაციის

ტრანსკრიპციული აქტივობის შესასწავლად. დადგენილია, რომ ყველაზე მაღალი ტრანსკრიპციული აქტივობა ახასიათებს ჰეპატოციტების ფსევდონუკლეოლონემური ბირთვებს და არა ნუკლეოლონემური ბირთვების ჰიპერტროფირებულ ფორმას, როგორც ეს წინათ იყო მიღებული.

## THE TRANSCRIPTION ACTIVITY AND ULTRASTRUCTURE OF MORPHOLOGICALLY DIFFERENT TYPES OF NUCLEOLI ISOLATED FROM NORMAL AND HEPATECTOMIZED RAT HEPATOCYTES

D. V. DZIDZIGURI, P. V. CHELIDZE, M. A. ZARANDIA,  
E. O. CHERKEZIA, G. D. TUMANISHVILI

Tbilisi State University

### Summary

The changes of RNA-synthesis intensity and ultrastructure of functionally different types of nucleoli of normal and hepatectomized albino rat liver cells has been studied. A new test-system for studies of transcriptional activity of each specific modification of nucleoli has been

worked out. It has been shown that the highest transcriptional activity is characteristic for pseudonucleolonemal nucleoli and not for the hypertrophied forms of nucleolonemal nucleoli as it was accepted before.



УДК 547.962:577.112

БИОХИМИЯ

## ВЗАИМОДЕЙСТВИЕ МОДИФИЦИРОВАННОГО $\alpha$ -АКТИНИНА С АКТИНОМ

К. Ш. Куридзе, С. О. Симоишвили, М. Ш. Симоидзе,  
М. М. Заалишвили

*Институт молекулярной биологии и биофизики АН Грузии, Тбилиси*

Поступила в редакцию 20.03.91

Для определения роли лизиновых остатков в функционировании  $\alpha$ -актинина белок был модифицирован малеиновым ангидридом и дансилхлоридом. Модификация лизиновых остатков вызывает уменьшение активности  $\alpha$ -актинина на  $\sim 60\%$ . Такое же уменьшение активности вызывает модификация SH-групп N-этилмалеимидом. Совместная модификация SH и  $\epsilon$ -аминогрупп не вызывает дополнительного уменьшения активности белка.

$\alpha$ -актинин — один из минорных белков, выделенный из поперечнополосатой мышцы кролика, имеет сложную молекулярную организацию: его полипептидная цепь уложена таким образом, что образует два крупных домена [1]. Установлено, что в N-концевом домене расположен центр связывания с актином, а C-концевой домен обеспечивает димеризацию молекулы  $\alpha$ -актинина [4].

### МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

**Получение белков.** Гомогенный препарат  $\alpha$ -актинина получали из мышечного фарша кролика по методике Пинтера [10], а актин по методике Спудича [11].

**Химическая модификация остатков лизина.** а) Модификация  $\epsilon$ -аминогрупп лизина малеиновым ангидридом [8]. Перед употреблением малеиновый ангидрид очищали возгонкой, растворяли в ацетоне ( $C=10$  мг/мл) и добавляли к раствору  $\alpha$ -актинина (количество белка 15 мг,  $C=1,5$  мг/мл) в буфере 0,1 М  $\text{KH}_2\text{PO}_4$ , pH 7,5, порциями по 50 мкл дважды.  $\alpha$ -актинин в вышеуказанном буфере переводили с помощью колонки ( $25 \times 1,5$  см) с сефадексом G-25. Реакцию модифи-

Ранее была исследована реакционная способность SH-групп  $\alpha$ -актинина и значение остатков цистеина для биологической активности этого белка [3, 5]. В данной работе впервые для выяснения возможного значения остатков лизина при функционировании  $\alpha$ -актинина исследовано свойство белка, модифицированного малеиновым ангидридом и дансилхлоридом.

кации лизиновых остатков проводили в течение 1 ч при комнатной температуре; pH раствора поддерживали автоматическим титрованием раствора 0,1 М NaOH. Избыток реагента отделяли диализом против буфера (А) — 2 мМ трис/HCl, 0,1 мМ АТФ, 0,5 мМ  $\beta$ -МЭ, 0,2 мМ  $\text{CaCl}_2$ . б) Модификация остатков лизина дансилхлоридом [9]. Непосредственно перед употреблением реагент растворяли в ацетоне ( $C=10$  мг/мл) и добавляли в количестве 100 мкл к раствору  $\alpha$ -актинина (количество белка 15 мг;  $C=1,5$  мг/мл) в буфере 0,1 М  $\text{NaHCO}_3$ , pH 8,3. Реакцию проводили при 37°C в течение 1 ч. Избыток реагента отделяли диализом против буфера (А).

Модификация SH-групп N-этилmaleimидом [7]. Перед употреблением реагент растворяли в смеси буфер/метанол 1:1 (C=20 мг/мл) и добавляли к раствору  $\alpha$ -актинина (количество белка 25 мг) в буфере 0,1 М трис/HCl, pH 8,1. Реакцию проводили при комнатной температуре в течение 30 мин. Затем раствор белка делили на две части; одну ставили на диализ против буфера (А), а вторую часть обессоливали на колонке (25×1,5 см) с сефадексом G-25 переводили в буфер для модификации лизиновых остатков маленновым ангидридом.

Получение комплекса  $\alpha$ -актинин-актин. Комплекс  $\alpha$ -актинин с акти-

ном получали в буфере (А). Белки смешивали таким образом, что концентрация актина во всех случаях была 1 мг/мл, а  $\alpha$ -актинина — 0,8 мг/мл. Затем добавлением хлористого калия до 0,1 М Г-актин переводили в Ф-форму. Смесь оставляли при комнатной температуре в течение 1 ч и центрифугировали при 100 000 g; осадок отделяли от супернатанта, растворяли в форезном буфере и анализировали электрофорезом в ПААГ в присутствии додецилсульфата натрия. Затем в электрофореграммах осадка денситографическим анализом определяли содержание  $\alpha$ -актинина и актина.

### РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

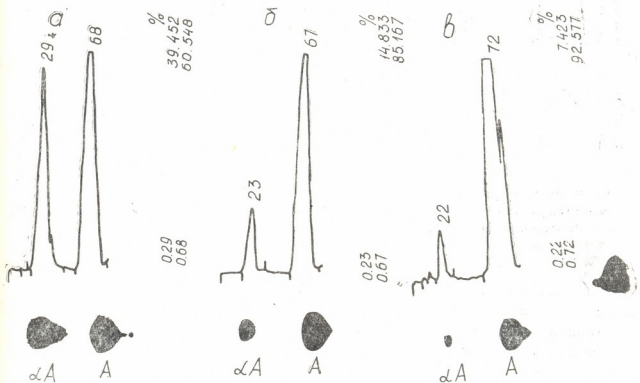


Рис. 1. Электрофореграмма и денситограмма комплекса  $\alpha$ -актинин-актин: а — комплекс немодифицированного  $\alpha$ -актинина с актином; б — комплекс модифицированного  $\alpha$ -актинина (маленновым ангидридом) с актином; в — комплекс модифицированного  $\alpha$ -актинина (дансил-хлоридом) с актином ( $\alpha A$  —  $\alpha$ -актинин, А — актин)

Химическая модификация аминокислот в белках широко применяется в практике. Метод дает возможность определять роль аминокислот в поддержании нативной конформации и проявлении биологической функции белков.

о функциональной активности белка судили по образованию комплекса  $\alpha$ -актинина с актином.

Сравнивая результаты анализа комплексов с модифицированным и немодифицированным  $\alpha$ -актинином, определяли изменения активности белка.

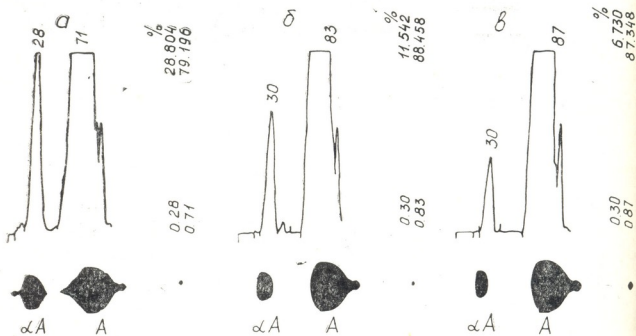


Рис. 2. Электрофореграмма и денситограмма комплекса  $\alpha$ -актинина—актин: а—комплексе немодифицированного  $\alpha$ -актинина с актином; б—комплекс модифицированного  $\alpha$ -актинина (N-этилмалеимидом) с актином; в—комплекс модифицированного  $\alpha$ -актинина (N-этилмалеимидом и малеиновым ангидридом) с актином ( $\alpha A$  —  $\alpha$ -актинин, A — актин)

Для выявления функционально важных аминокислотных остатков  $\alpha$ -актинина химической модификации подвергались  $\epsilon$ -аминогруппы боковой цепи лизина и SH-группы цистеиновых остатков. В качестве модифицирующих реагентов для лизинов применяли малеиновый ангидрид и дансилхлорид, а для модификации цистеиновых остатков — N-этилмалеимид.

Химическую модификацию  $\alpha$ -актинина проводили в мягких условиях и

Серия опытов показала, что в нативном комплексе количество  $\alpha$ -актинина соответствует 40%, после модификации  $\alpha$ -актинина малеиновым ангидридом его количество уменьшается до 15%, а после модификации дансилхлоридом — до 8% (рис. 1).

Из приведенных результатов видно, что количество  $\alpha$ -актинина в комплексе  $\alpha$ -актинин — актин после модификации уменьшается. Если принять количество  $\alpha$ -актинина в нативном ком-



плексе за 100%, то после модификации лизиновых остатков малениновым ангидридом его количество уменьшается на 60%, а после модификации дансилхлоридом — на 70%. Из этих результатов очевидно, что уменьшение сродства  $\alpha$ -актинина к актину вызвано модификацией  $\epsilon$ -аминогрупп лизина.

В данной работе нами было исследовано влияние совместной модификации SH- и  $\epsilon$ -аминогрупп  $\alpha$ -актинина на активность белка. На рис. 2,б приведены результаты анализа комплекса  $\alpha$ -актинин-актин, полученного при взаимодействии нативного актина и модифицированного по SH-группам  $\alpha$ -актинина, а на рис. 2,в приведены результаты анализа комплекса, полученного из актина и  $\alpha$ -актинина, у которого модифицированы как SH-, так и  $\epsilon$ -аминогруппы лизина. В первом случае количество  $\alpha$ -актинина в комплексе составляет 12%, а во втором — 7%. По сравнению с нативным комплексом, количество  $\alpha$ -актинина уменьшается в случае модификации SH-групп на 60%, а при модификации как SH-, так и  $\epsilon$ -аминогрупп — на 75%. Ранее было показано, что  $\alpha$ -актинин содержит SH-группы разного типа [3]. При температуре 20°C и pH 8,1 в  $\alpha$ -актинине титруется шесть SH-групп и их модификация п-хлормеркурибензоатом и ДТНБ вызывает падение активности белка;

особенно резкое падение активности наблюдается, когда в белке модифицируются две SH-группы. Наши данные показывают, что модификация SH-групп N-этилмаленином также вызывает уменьшение активности белка; активность белка уменьшается и при совместной модификации SH- и  $\epsilon$ -аминогрупп, но эта величина практически не отличается от активности белка, у которого по отдельности модифицированы SH- и  $\epsilon$ -аминогруппы.

Известно, что  $\alpha$ -актинин и Ф-актин взаимодействуют N-концевыми доменами. Так как в активном центре актина в основном расположены аминокислоты, носящие отрицательные заряды, и N-домен  $\alpha$ -актинина, связывающийся с актином, содержит 22 остатка лизина и одну экспонированную SH-группу [2, 6], а при модификации лизиновых остатков  $\alpha$ -актинина увеличивается отрицательный заряд белка, то, вполне вероятно, что причиной уменьшения сродства  $\alpha$ -актинина к актину является электростатическое отталкивание.

Следует отметить, что наше предположение не исключает нахождения лизиновых остатков в активном центре  $\alpha$ -актинина, так как пока не известно, как расположены лизиновые остатки на поверхности нативной молекулы белка, в частности на N-концевом домене  $\alpha$ -актинина.

## ЛИТЕРАТУРА

1. Куридзе К. Ш., Веньяминов С. Ю., Симоидзе М. Ш., Надирашвили Н. Ш., Заалишвили М. М. Биохимия, 5, 6, 899—904, 1988.
2. Куридзе К. Ш., Симоидзе М. Ш., Надирашвили Н. Ш., Заалишвили М. М. Биоорг. химия, 11, 3, 316—320, 1985.
3. Надирашвили Н. Ш., Симоидзе М. Ш. Биофизика, 27, 584—586, 1982.
4. Симоидзе М. Ш., Куридзе К. Ш., Надирашвили Н. Ш., Заалишвили М. М. Биохимия, 54, 10, 1740—1744, 1989.
5. Симоидзе М. Ш., Надирашвили Н. Ш., Заалишвили М. М., Шрайбман Ф. О. Сообщения АН ГССР, 104, 453—455, 1981.
6. Симоидзе М. Ш., Куридзе К. Ш., Надирашвили Н. Ш., Купатадзе Р. М., Заалишвили М. М., Шрайбман Ф. О. Сообщения АН ГССР, 125, 2, 397—400, 1987.
7. Торчинский Ю. М., Сера в белках, «Наука», М., 1977, 679—689.
8. Butler P. J. G., Harris J. I., Hartley B. S., Leberman R., Biochem. J., 112, 679—689, 1969.
9. Hartley B. S. Biochem. J., 119, 805—822, 1970.
10. Pinter K., Janeso A., Biro E. N. A. Acta biochem. et Biophys. Acad. Sci. Hung., 15, 217—222, 1980.
11. Spudich I. A., Watt S. J. Biol. Chem., 246, 4866—4871, 1971.

# მოდიფიცირებული $\alpha$ -აქტინინის ურთიერთქმედება აქტინთან

ბ. კურძე, ს. სიმონიშვილი, მ. სიმონიძე, მ. ჯაალიშვილი

საქართველოს მეცნიერებათა აკადემიის მოლეკულური ბიოლოგიისა და ბიოლოგიური ფიზიკის ინსტიტუტი, თბილისი

რ ე ზ ი უ მ ე

$\alpha$ -აქტინინის ფუნქციონირებაში ლიზინის ნაშთის როლის შესწავლის მიზნით ცილა მოდიფიცირდება მალეინის ანჰიდრიდით და დანსილქლორიდით. ლიზინის ნაშთების მოდიფიცირება იწვევს  $\alpha$ -აქტინინის აქტიობის ~60%-ით დაქვეითებას.

აქტიობის ასეთივე შემცირებას იწვევს SH-ჯგუფების მოდიფიცირება N-ეთილმალეიმიდით. SH-ჯგუფების და  $\epsilon$ -ამინოჯგუფების ერთდროულ მოდიფიცირებას ცილის აქტიობის დამატებით შემცირება არ გამოუწვევია.

## INTERACTION OF MODIFIED $\alpha$ -ACTININ WITH ACTIN

K. KURIDZE, S. SIMONISHVILI, M. SIMONIDZE, M. ZAALISHVILI

Institute of Molecular Biology and Biological Physics, Tbilisi

### S u m m a r y

The influence of the lysine residues on the  $\alpha$ -actinin activity was studied using the chemical modification with maleic anhydride and Dansyl chloride. Modification of lysine residues leads to the decrease of the protein up to 60%. The same

decrease of activity of  $\alpha$ -actinin was observed while the SH—groups were modified using N-ethylmaleimide. But the joint modification of the SH—and  $\epsilon$ -amino groups of lysine residues does not lead to the decrease of  $\alpha$ -actinin activity.



№ 588.132

მეცნიერებათა ფიზიოლოგია

## ენდოსპერმის გავლენა სიმინდის აღმონაცემის კლასტიდური და არაკლასტიდური პიგმენტების შემცველობაზე და ზრდის პროცენტებზე

ე. კაცხოველი, ი. სისარულიძე, მ. გიგინეიშვილი, ი. ზიზიაშვილი,  
მ. სარაჯიძე, მ. ძვათაძე

საქართველოს მეცნიერებათა აკადემიის ნ. კეცხოველის სახელობის ბოტანიკის ინსტიტუტი, თბილისი

შემოსული რედაქციაში 11.11.91

შეისწავლეთ ენდოსპერმის გავლენა ( $1/2$  ენდოსპერმიანა, უენდოსპერმო, მარყუხუხე ვადაქრილი) სიმინდის აღმონაცემის ფოთლების, კოლექტილის, მეზოკოტილის, ფესვების პლასტიდურ და არაკლასტიდურ პიგმენტების შემცველობაზე და მცენარის ზრდაგანვითარებაზე.

გამოირკვა, რომ ენდოსპერმის მოცილება უარყოფითად მოქმედებს, როგორც პლასტიდური, ისე ანთოციანური პიგმენტების წარმოქმნაზე. დანაწევრება უარყოფითად მოქმედებს მცენარეთა ზრდა-განვითარებაზეც.

მცენარე ერთი მთლიანი ორგანიზმია. რომლის ცხოველმოქმედება განპირობებულია ორგანოთა ფიზიოლოგიურ-ბიოქიმიური პროცესების ურთიერთქმედებით. საკმარისია რომელიმე ორგანო გამოირიცხოს ამ მთლიანობიდან, რომ დაირღვეს სასიცოცხლო პროცესების მიმდინარეობა.

ირკვევა, რომ ბარდის ლეზნები აყალიბებენ ენდოგენური რეგულატორების ხასიათს და რომ ციტოკინინები მიწისზედა ორგანოების ქლოროფილების წარმოქმნის პროცესთან არიან დაკავშირებული [30]. ასევე მზესუმზირის ლეზნების გამოწვევანა თავისთავად არ არის ავტონომიური პროცესი. იგი დამოკიდებულია ჰიპოკოტილისა და ფესვებისაგან. უკანასკნელის თანაპოვნეობა კი აუცილებელია გამოწვევების მაქსიმალური სიჩქარის მიღწევისათვის [27].

ბ. რუბინის და მისი თანამშრომლების ადრეული შრომებიც ამის დამადასტურებელია [18—21, 5—7, 3]. მთლიანი კოლექტილის მოცილება ფოთლებით და მარყუხით იწვევს თავისუფალი ინდო-

ლილ-3-ჰმრის მკავეის რაოდენობის საგრძნობ შემცირებას [29]. ენდოსპერმის მოცილება სიმინდის აღმონაცემების მიწისზედა ნაწილში იწვევდა ანთოციანების წარმოქმნის შეფერხებას, თავისუფალი ინდოლილ-3-ჰმრის მკავეის დონის დაწევას 40%, ხოლო ბმული ფორმების მატებას [32, 4]. ღერძის მოცილება იწვევს ქლოროფილების წარმოქმნის ძლიერ დათრგუნვას კიტრის იზოლირებულ ლეზნებში სინათლეზე. ითრგუნება აგრეთვე რიბულოზიდოსფაქტარბოქსილაზის და მიტოქონდრიების სუნთქვის ფერმენტების აქტიობაც [33].

ყურადსაღებია აგრეთვე შრომები დეკაბიტაციაზე [23, 24, 31, 37].

არ შეიძლება არ შეეჩერდეთ ორი ფრიად საყურადღებო ბოლო დროის გამოკვლევაზე, რომელიც ერთგვარად აშუქებს და ნათელს ხდის ჩვენ ხანგრძლივ კვლევას [12—14] ფოთოლგარე ქლოროპლასტების პიგმენტური კომპლექსის შესახებ. ეს ეხება დ. მანდოლისა და



უ. ბრიგის [15] და ბ. პაქის [16] და კ. პოფის [35] გამოკვლევებს. ამ კვლევათა ფონზე ფოთოლგარე ქლოროპლასტების და ვაკუოლის პიგმენტების — ანთოციანური პიგმენტების ფიზიოლოგიური როლის არსი უფრო ღრმადდება და სხვა ელფერს ღებულობს. საბოლოოდ შეიძლება უარყოფილ იქნას აზრი ფოთოლგარე ქლოროპლასტებზე, როგორც ფუნ-

ქციადაკარგულ რელიქტურ ანთოციანურ პიგმენტებზე, ინერტულ მეორადი ცვლის პროდუქტებზე [12, 16, 25, 36].

ჩვენი კვლევის მიზანს შეადგენდა მცენარის მთლიანობის გავლენის დადგენა ზრდის პროცესზე და პლასტიდურ და არაპლასტიდურ პიგმენტთა ბიოსინთეზზე მცენარის განვითარების საწყის ფაზაში.

**ოზიკონი და მეთოდიკა**

საკვლევ ობიექტად გამოვიყენეთ სიმინდის ჯიში „აჯამეთის თეთრი“ [1, 2].

ცდები ტარდებოდა ლაბორატორიულ პირობებში. თესვები ღივდებოდნენ და ვითარდებოდნენ თერმოსტატში 72 საათის განმავლობაში 26—28°C. ამ დროის განმავლობაში მცენარე აღწევდა კოლეოპტილის სტადიას. კოლეოპტილი კარგად იყო განვითარებული. კარგათვე იყო განვითარებული მეზოკოტილი მარჯუეთი და ფესვები. 72 საათის შემდეგ მცენარე გამოგვქონდა თერმოსტატიდან, ვანაწევრებდით და დანაწევრებული მცენარეები — 1/2 ენდოსპერმიანი, უენდოსპერმო, მარჯუთზე გადაჭრილი და ენდოსპერმიანი (საკონტროლო) გადაგვქონდა 72 საათთან განათებაზე სპეციალურ ოთახში. აქ უკვე მცენარე აღწევდა ორფოთლიან სტადიას.

განათების ინტენსივობა უცვლელი იყო — 4000 ლუქსი. ვიყენებდით დღის განათების „БС ЛДП-40“ ტიპის ნათუ-

რიბს. მანძილი ნათურიდან კიუვეტამდე უდრიდა 105 სმ.

პლასტიდური პიგმენტების რაოდენობრივი შემცველობა სიმინდის აღმონაცენების ორგანოებში შეისწავლებოდა ცნობილი მეთოდიკით [17]. საკვლევი ხსნარების სიმკვრივე ისაზღვრებოდა სპექტროფოტომეტრ 26-ზე, ხოლო პიგმენტების რაოდენობრივი შემცველობა — ვეტშტეინის ფორმულებით [38], საჭიროების მიხედვით შეგვქონდა სათანადო შესწორება ფორმულაში ქლოროფილი ხ-სათვის [8, 22].

ანთოციანური პიგმენტების რაოდენობრივი შემცველობა შეისწავლებოდა სიმინდის აღმონაცენების ფსევებში. მეზოკოტილში და კოლეოპტილში ციანიდინის მრუდის გამოყენებით [10, 4, 34].

ზრდის ინტენსივობა აღირიცხებოდა საშუალოდ 30 მცენარეზე, ხოლო ექსპერიმენტი ჩატარდა 3-ჯერადი გამეორებით.

**კვლევის შედეგები და მათი განხილვა**

აღმოჩნდა, რომ სიმინდის აღმონაცენების დანაწევრება გარკვეულ გავლენას ახდენს არა მარტო პლასტიდურ და არაპლასტიდურ პიგმენტების ბიოსინთეზზე, არამედ მცენარის ზრდა-განვითარებაზეც.

თუ 1/2 ენდოსპერმიან ნაზარდების გარეთა ფოთლებში აღინიშნება ქლოროფილ a-სა და კაროტინოიდების ბიოსინთეზის ერთგვარი დაქვეითება, უენდოსპერმო ნაზარდებში ქლოროფილების ჯამი საკონტროლოს უტოლდება და რამდენადმე ქვეითდება მხოლოდ კაროტინოიდების ბიოსინთეზი. ქლოროფილ ხ-ს დონე ორივე ვარიანტში საკონტროლოს აღემატება.

1/2 ენდოსპერმიან და უენდოსპერმო

ნაზარდების შიგნითა ფოთლებში კი აღინიშნება მწვანე პიგმენტების და კაროტინოიდების ბიოსინთეზის ძლიერი გააქტიურება (ცხრ. 1). როგორც ჩანს, პლასტიდური პიგმენტების ბიოსინთეზის საგრძნობო გააქტიურება შიგნითა ფოთლებში გამოწვეული უნდა იყოს სტადიურად ახალგაზრდა ქლოროპლასტების ცხოველმოქმედებით.

კოლეოპტილში (ცხრ. 1) როგორც მწვანე, ისე ყვითელი პიგმენტების ბიოსინთეზი შესუსტებულია მხოლოდ უენდოსპერმო ნაზარდებში.

განსხვავებულ სურათს იძლევა მეზოკოტილის პიგმენტური სისტემის ცვალებ-



ენდოსპერმის გავლენა სიმინდის ნაზარდების პლასტიდური პიგმენტების შემცველობაზე (მგ% ნედლ წონაზე)

ორგანო	პიგმენტები	კონტროლი	1/2 ენდოსპერმიანი	უენდოსპერმო	მარყუქზე გადაჭრილი
გარეთა	ქლოროფილი a	150	136	147	
	ქლოროფილი b	42	45	46	
	a+b	192	181	191	
	კაროტინოიდები c	81	76	74	
ფოთოლი	a : b	3,5	3,0	3,1	
	a+b : c	2,4	2,4	2,6	
შიგნითა	ქლოროფილი a	101	152	133	
	ქლოროფილი b	37	49	35	
	a+b	138	201	168	
	კაროტინოიდები c	53	64	74	
ფოთოლი	a : b	2,8	3,1	3,8	
	a+b : c	2,6	3,0	2,3	
კოლეო-ტილი	ქლოროფილი a	9,4	9,6	7,0	
	ქლოროფილი b	4,0	3,7	2,0	
	a+b	13,4	13,3	9,0	
	კაროტინოიდები c	5,6	5,4	2,5	
ტილი	a : b	2,4	2,5	3,5	
	a+b : c	2,4	2,5	3,6	
მეზოკო-ტილი	ქლოროფილი a	0,38	0,37	0,43	0,94
	ქლოროფილი b	0,32	0,21	0,16	0,48
	a+b	0,70	0,58	0,59	1,42
	კაროტინოიდები c	0,30	0,35	0,40	0,72
ტილი	a : b	1,3	1,8	2,7	2,0
	a+b : c	2,3	1,6	1,4	2,0

ცხრილი 2

ენდოსპერმის გავლენა ანთოციანების შემცველობაზე სიმინდის ნაზარდებში

ორგანო	კონტროლი		1/2 ენდოსპერმიანი		უენდოსპერმო		მარყუქზე გადაჭრილი	
	ანთოციანების შემცველობა, მგ%							
	ნედლ წონაზე	მშრალ წონაზე	ნედლ წონაზე	მშრალ წონაზე	ნედლ წონაზე	მშრალ წონაზე	ნედლ წონაზე	მშრალ წონაზე
კოლეო-ტილი	48	415	47	461	9	115	—	—
მეზოკო-ტილი	44	373	45	514	10	135	68	505
ფესვები	68	128	100	165	31	508	127	1145

ბაღობა. საკონტროლოსთან შედარებით 1/2 ენდოსპერმიან და უენდოსპერმო ვარიანტის მეზოკოტილში აღინიშნება მწვანე პიგმენტების ჯამის საგრძნობი შემცირება ქლოროფილ ხ-ს ხარჯზე, მაშინ როდესაც მარყუქზე გადაჭრილ ვარიანტს მეზოკოტილში ძლიერ აქტიურდება არა მარტო მწვანე პიგმენტების ბიოსინთეზი,

არამედ უვითელი პიგმენტებისაც. ასე მაგ., მარყუქზე გადაჭრილ აღმონაცენთა მეზოკოტილში ქლოროფილ ა-ს რაოდენობა საკონტროლოსთან შედარებით 2,5-ჯერ მეტია, შესაბამისად ქლოროფილ ხ-სი — 1,5-ჯერ, a+b-სი — 2-ჯერ, ხოლო კაროტინოიდებისა — 2,4-ჯერ.

დანაწევრების გავლენა გარკვეულ გავლენას ახდენს ანთოციანური პიგმენტების შემცველობაზეც (ცხრ. 2). აღინიშნება ამ პიგმენტების რაოდენობრივი მატება მარყუჟზე გადაჭრილ მცენარეთა მეზოკოტილში და 1/2 ენდოსპერმიან და მარყუჟზე გადაჭრილ მცენარეთა ფესვებისათვის.

მშრალ წონაზე გადაანგარიშებისას ანთოციანური პიგმენტების საგრძნობი რაოდენობრივი მატება აღინიშნება 1/2 ენდოსპერმიან ნაზარდების კოლეოპტილსა და მეზოკოტილში. მაშინ როდესაც მწვანე პიგმენტების ბიოსინთეზი სუსტდება. უენდოსპერმო მცენარეების კოლეოპტილსა და მეზოკოტილში პირიქით — ანთოციანური პიგმენტების რაოდენობრივი შემცველობა საგრძნობლად კლებულობს. შესაბამისად საკონტროლოსთან შედარებით კოლეოპტილში იგი 3,6-ჯერ ნაკლებია, ხოლო მეზოკოტილში — 2,8-ჯერ.

სამივე ვარიანტის ფესვებში და მარყუჟზე გადაჭრილ მცენარეთა მეზოკოტილში კი აღინიშნება ანთოციანური პიგმენტების ბიოსინთეზის საგრძნობი გააქტიურება. საინტერესოა, რომ მარყუჟზე გადაჭრილ მცენარეთა მეზოკოტილში საგრძნობლად აქტიურდება აგრეთვე არა მარტო მწვანე პიგმენტების, არამედ ყვითელა პიგმენტებს ბიოსინთეზიც. აქასთან თვით ანთოციანური პიგმენტების დი-

ლურ პიგმენტებს ერთმანეთისაგან სრულიად დამოუკიდებელი ბიოსინთეზის სიათებთ. ამდენად შეიძლება, რომ არ ვეძებოთ კორელაციური კავშირი ამ ორ დამოუკიდებელ პროცესს შორის [26]. თუმცა მკვლევარნი არ გამოირიცხავენ ანთოციანური პიგმენტების დადებით გავლენას ქლოროფლასტებზე და მათ ფუნქციაზე [25], ქლოროფილების მაქსიმალურ შემცველობაზე და ზრდის გაძლიერებაზე [36], ანთოციანშემცველი ფოთლების ფოტოსინთეზის და სუნთქვის მაღალ დონეს მწვანე ფოთლებთან შედარებით [12, 9, 11]. ზოგ შემთხვევაში კი (მაგ. გალიეებაზე) გამორიცხული არაა ფენოლური ნაერთების ინჰიბირული ეფექტიც [28].

აღმოჩნდა, რომ ენდოსპერმის მოცულება ძლიერი ფაქტორია და უარყოფითათ მთქმედებს როგორც პლასტიდური, ისე არაპლასტიდური პიგმენტების წარმოქმნაზე. ჩვენი მონაცემები ანალოგიურია ე. არაპეტიანის მონაცემებისა [4].

ენდოსპერმის გავლენა შეიძინევა სიმინდის აღმონაცენების ზრდის პროცესზეც (ცხრ. 3). ზრდის პროცესი საგრძნობლად დაეცინებულა.

ყურადსაღებია, რომ ჩვენი კვლევის შედეგად მიიწვ ვერ გამოიკვეთა ორგანული კავშირი ანთოციანური პიგმენტების და პლასტიდური პიგმენტების რაოდენობ-

ცხრილი 3

ენდოსპერმის გავლენა სიმინდის აღმონაცენების ზრდის პროცესზე სმ-ში

ო რ ა ნ ი	ენდოსპერმიანი ნაზარდები	1/2 ენდოსპერმიანი ნაზარდები	უენდოსპერმო ნაზარდები	გადაჭრილი მარყუჟზე
მთლიანი მცენარის სიგრძე	38,0±1,3	31,0±1,3	23,4±1,2	19,0±1,2
ფესვის სიგრძე	23,0±0,9	17,0±1,0	12,0±0,8	15,0±1,0
გარეთა ფოთლის სიგრძე	5,0±0,2	4,7±0,2	4,8±0,3	
შინთა ფოთლის სიგრძე	6,0±0,3	5,0±0,4	3,5±0,3	
კოლეოპტილი	2,7±0,1	2,7±0,1	2,4±0,1	
მეზოკოტილი	4,8±0,4	4,5±0,4	4,0±0,4	4,0±0,4

დი რაოდენობა გროვდება მარყუჟზე გადაჭრილ აღმონაცენთა ფესვებში.

როგორც ბოლო დროის გამოკვლევებით ირკვევა პლასტიდურ და არაპლასტი-

რივ შემცველობასა და ზრდის პროცესს შორის. თუმცა ზოგიერთ კონკრეტულ შემთხვევაში ამგვარი ურთიერთდამოკიდებულება პიგმენტების რაოდენობრივ



შემცველობასა და ზრდის პროცესს შორის მაინც შეიძლება.

შეიძლება გამოვიტანოთ ზოგადი დასკვნა, რომ ტროფიკული ფაქტორი სხვა ფაქტორებთან ერთობლიობაში განსაზღვრავს აღმონაცენების არა მარტო ზრდის

პროცესებს, არა მარტო პიგმენტების მართებას ამ პროცესებისადმი, არამედ გარკვეულ გავლენას ახდენს როგორც პლასტიდურ, ისე ანთოციანური პიგმენტების ბიოგენეზზეც.

ლიტერატურა

1. მირიანაშვილი გ., ზაქარიაძე ა. მხედრის დედოფალი, თბილისი, „საბჭოთა საქართველო“, 1961.
2. წულუჭიძე მ., თედორაძე ს. მოსკოვის გალიდებუ პიბრილიზაციის საშუალებით, „სახელგამი“, თბილისი, 1955.
3. Андреева Р. А., Комлева В. П. Физиол. раст., 18, 1, 209—211, 1971.
4. Арапетян Э. Р. Торможение роста и накопление антоцианов в проростках кукурузы, Канд. дисс., М., 1983.
5. Гавриленко В. Ф., Рубин Б. А. ДАН СССР, 148, 4, 958—961, 1963.
6. Гавриленко В. Ф., Рубин Б. А. В сб.: Роль минеральных элементов в обмене веществ и продуктивности растений, «Наука», М., 1964, 272—278.
7. Гавриленко В. Ф., Гужова Н. В., Рубин Б. А. ДАН СССР, 164, 6, 1428—1431, 1965.
8. Гавриленко В. Ф., Ладыгина М. Е., Хандобина Л. М. Большой практикум по физиологии растений, М., «Высшая школа», 1975.
9. Джапаридзе И. Г. Физиологические особенности некоторых краснолистных и зеленолистных древесных растений. Автореф. канд. дисс., Тбилиси, 1973.
10. Дурмишадзе С. В., Сопромадзе А. Н. В сб.: Методы биохимических исследований, «Мецниереба», Тбилиси, 134—138, 1983.
11. Кецохели Э. Н., Джапаридзе И. Г. Сообщение АН ГССР, 62, 3, 661—664, 1973.
12. Кецохели Э. Н. Пигменты коры и древесины. Автореф. докт. дисс., Тбилиси, 1975.
13. Кецохели Э. Н., Кватадзе М. Г., Гигინейшвили М. Н., Сараджва М. А. Изв. АН ГССР, 12, 3, 190—200, 1986.
14. Кецохели Э. Н., Кицკладзе Д. Ч., Джапаридзе И. Г., Гигინейшвили М. Н., Сараджва М. А. В сб.: Физиология морозостойчивости вино-

- градной лозы, «Мецниереба», Тбилиси, 1986, 160—194.
15. Мандоли Дина Ф., Бригге Уинслоу Р. В мире науки (Scientific America) на русском языке, М., 10, 66—75, 1984.
16. Музафаров Е. Н. Механизм действия и физиологические функции флавоноидов при фотосинтезе высших растений. Автореф. докт. дисс., Тбилиси, 1990.
17. Пигменты пластид зеленых растений и методика их исследования, М.—Л., «Наука», 1964.
18. Рубин Б. А., Германова В. Ф. Усп. современ. биол., 65, 3, 366—383, 1958.
19. Рубин Б. А., Германова В. Ф. ДАН СССР, 124, 4, 940—943, 1959.
20. Рубин Б. А., Арциховская Е. В. Биохимия и физиология иммунитета, М., Изд-во АН СССР, 1960.
21. Рубин Б. А., Гавриленко В. Ф., Гужова Н. В. ДАН СССР, 156, 4, 961—963, 1964.
22. Шлык А. А. В сб.: Биохимические методы в физиологии растений, М., «Наука», 1971, 154—170.
23. Bennet R. J., Green S. M., Winton A. G. РЖ биология, 04Г физиол. и биохим. раст., 8Г, 1987, 279.
24. Borowski Edward, Kozłowska Lidia. Acta agrobot., 37, 2, 123—131, 1984.
25. Dhawale N. M., Akhtar M., Sharma V. Photosynthetica, 17, 2, 264—266, 1983.
26. Drumm-Hergel H., Bergfeld R., Mohr H. Proc. Indian Acad. Sci. Plant. Sci., 93, 3, 245—251, 1979.
27. Ford M., Black M., Charman J. M. J. Exp. Bot., 28, 105, 926—934, 1977.
28. Hruska Ann Fagan, Dirr Michael A., Pokorny F. A. J. Amer. Soc. Hort. Sci., 107, 3, 468—473, 1982.
29. Iino Moritoshi, Carr Denis, J. Plant Physiol., 69, 5, 1109—1112, 1982.





30. Jandova B., Sladky Z. Ser. Fac. Sci. natur. UJEP crum Biol., 9, 1, 1—10, 1979.

31. Kigel Jaime, Bot. Gaz., 142, 1, 7—12, 1981.

32. Momonoki Yoshie S., Schulze Aga, Bandurski Robert S. Plant Physiol., 72, 2, 526—529, 1983.

33. Morohashi Yukio, Matsushima Hisashi, J. Plant Physiol., 132, 3, 279—283, 1988.

34. Nakatani Nobuji, Fukuda Tani, Fuwa Hidetsugu. Agr. and Biol. Chem., 43, 2, 389—391, 1979.

35. Parks Brian M., Poff Kenneth L. Plant Physiol., 81, 1, 75—80, 1986.

36. Rao S. Seeta Ram, Rao K. V. N. Curr. Sci. (India), 54, 18, 945—947, 1985.

37. Sebanek J., Tan Hoag Minh, Kličova S. Biochem. und Physiol. Pflanz., 174, 8, 691—695, 1979.

38. Wettstein D. Cell Research., 12, 427—506, 1937.

**ВЛИЯНИЕ ЭНДОСПЕРМА НА СОДЕРЖАНИЕ ПЛАСТИДНЫХ И ВНЕПЛАСТИДНЫХ ПИГМЕНТОВ И РОСТ ПРОРОСТКОВ КУКУРУЗЫ**

Э. Н. Кецховели, И. П. Сихарулидзе, М. Н. Гигинеишвили, И. В. Чичиашвили, М. А. Сараджева, М. Г. Кватадзе

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

**Резюме**

Изучалось влияние эндосперма (проростки с 1/2 эндосперма, без эндосперма, перерезанные на узле) на процессы роста и количественное содержание пластидных и внепластидных пигментов в колеоптиле, мезоко-

тиле, листьях и корнях кукурузы. Как выяснилось, трофическим фактором определяется не только рост растений, но и, в определенной мере, биосинтез пластидных и антоциановых пигментов.

**THE EFFECT OF ENDOSPERM ON THE CONTENT OF PLASTID AND NONPLASTID PIGMENTS AND GROWTH PROCESSES IN THE MAIZE SPROUTS**

E. KETSKHOVELI, I. SIKHARULIDZE, M. GIGINEISHVILI, I. CHICHIASHVILI, M. SARAJEVA, M. KVATADZE

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

**Summary**

The effect of endosperm on the plastid and nonplastid pigment content and growth process in the maize (with 1/2 endosperm, without endosperm, loop cut) was studied. The trophic factor was

found to determine not only the growth process of sprouts but also to some extent the plastid and anthocyan pigment biosynthesis.

УДК 56:57+551.77

ПАЛЕОБИОЛОГИЯ

## СОПРЯЖЕННАЯ ЭВОЛЮЦИЯ РАСТИТЕЛЬНОСТИ И ПОЗВОНОЧНЫХ ГРУЗИИ В ПОЗДНЕМ КАЙНОЗОЕ

Л. К. Габуния, К. И. Чочиева

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

Поступила в редакцию 11.11.91

Прослеживаются основные этапы сопряженной эволюции неогеновых фаун позвоночных и растительного покрова Грузии и смежных с нею областей Кавказа. Показана тесная связь этого процесса эволюции с изменениями палеогеографической обстановки, вызванными геологическими преобразованиями, происходившими в течение всего этого времени в Черноморско-Каспийской области. Особое внимание уделяется сохранению в Западном Закавказье вплоть до плейстоцена своего рода рефугиума, обусловившего важнейшие особенности развития растительного покрова и животного мира этой провинции и ее различия с Восточнозакавказской палеогеографической провинцией.

Самые ранние следы наземных млекопитающих на территории Закавказья, как, собственно, и всей Восточной Европы, ведут к позднему эоцену. К концу пятидесятих годов в морских верхнеэоценовых отложениях Юго-Западной Грузии была найдена бедренная кость млекопитающего, принадлежащего какому-то архаическому представителю Chalicotheriidae [8]. Эта находка позволяла предполагать близость суши, которая, по всей вероятности, являлась ареной важнейших событий в истории древних млекопитающих Кавказа. Мы склонны думать, что именно здесь мог проходить путь, по которому уже в эоцене осуществлялся обмен фаун млекопитающих Азии и Европы. Древняя кавказская суша представляется нам своего рода фильтрующей зоной, откуда лишь наиболее подвижные и выносливые формы проникали из Азии в Европу или в обратном направлении. Смешанный комплекс европейско-азиатских форм млекопитающих, обнаруженный в олигоценовых отложениях Южной Грузии (Бенара), подтверждает и обосновывает это пред-

положение [7, 9]. Отсутствие индрикотерия и некоторых других азиатских форм в олигоценовой фауне Западной Европы объясняется, видимо, тем, что путь прохореза, доступный одним животным, мог оказаться непреодолимым для других. Например, продвижению индрикотерия на запад могли препятствовать Закарпатье или юго-западный рукав зачинавшегося Паратетиса.

Территория юга Грузии в олигоцене представляла собой северную окраину Малоазиатской суши; возможно, полуостров, омываемый с севера теплыми водами корбулевого моря. На месте нынешнего Ахалцихского района, представлявшего прибрежную полосу моря, находилась отшнуровавшаяся в позднем олигоцене лагуна, почти со всех сторон окруженная невысокими горами, сложенными преимущественно вулканическими породами. Судя по данным палеоботаники [2, 17, 20, 23], горы эти были покрыты богатейшей лесной растительностью тропико-субтропического типа. В олигоцене, как и в эоцене, согласно явной полнотности спорово-пыльцевых комплексов и

«листовых» флор, растительность Южной Грузии носила отчетливо выраженный поясной характер, близкий по типу лесной поясности влажных горных тропиков. Пологие склоны гор в нижней части своей были, видимо, покрыты густыми влажно-тропическими лесами, переходящими выше в субтропические. За поясом последних следовали хвойные леса с примесью, в пограничной зоне, еще немногочисленных умеренно-теплых лиственных. Берег моря окаймляла мангрове, проникавшие вверх, вдоль рек, в зону солоноватой воды — обиталище *Nipa*. Остатки *Taxodium*, *Glyptostrobus*, *Nyssa*, *Liquidambar*, *Nejumbo*, *Potamogeton*, *Phragmites* позволяют предполагать разнообразие типов водно-болотной растительности, развитой, по всей вероятности, в прибрежной полосе, на нешироких, периодически затопляемых низинах и в поймах рек. Корневища и плоды водно-болотных травянистых, молодые побеги, листья, плоды, семена древесных и кустарниковых создавали, несомненно, неисчерпаемый запас пищи для довольно многочисленных антракотерид и тапирообразных, населявших в это время южногрузинскую сушу. Однако, судя по некоторым другим представителям бенарской фауны — ардиния, бенаратерий, прдремотерий, гиракодонт, аллоцеропс, цилиндродонт, в конце палеогена в Южной Грузии не исключено существование и сухих или относительно сухих стадий. Подтверждением этого предположения могут рассцениваться находки остатков *Bombacaeae*, *Brachystegia*, *Proteaceae*, *Ranunculaceae*, *Violaceae*, *Linum*, *Chenopodiaceae*. *Artemisia*, *Compositae*. Редкость их, однако, создает впечатление вкрапленности (опушки и прогалины леса, сухие скалистые склоны гор) создаваемых им стадий в господствующий тип влаголюбивой растительности.

В раннем миоцене флора Грузии не носит следов каких-либо существенных изменений — все тот же лесной тип, высокое систематическое разнообразие древостоя, сочетание растений, свойственных различным климатическим и высотным поясам. Не менее характерно и обилие таксо-

нов, ареалы которых в настоящее время сосредоточены главным образом в тропиках или субтропиках Старого и Нового света. Низкие острова, существовавшие на месте современного Кавказского хребта и острова Закавказского архипелага были покрыты лесами, образованными, в преобладающем большинстве своем, вечнозелеными растениями. Разнообразным был состав и подлеска этих лесов, их папоротниковый покров. Заметную роль играли, видимо, лианы и эпифиты.

Раннемиоценовые млекопитающие в Закавказье почти не известны. Исключение составляет находка в низах миоцена Армении *Gomphotherium aff. cooperi* [6]. Однако данные по смежной с Кавказом области Приаралья, где большинство растительных форм в раннем миоцене состояло из различной степени специализированных листоедов — гомфотериев, анхитериев и др., позволяют допустить, что отдельные представители фауны млекопитающих этого времени и здесь могли быть связаны с полуоткрытыми ландшафтами. Возникновение же полуоткрытых ландшафтов на Кавказе представляется вполне естественным вследствие усиления горнообразовательных движений (штирийская фаза), регрессии моря и связанным с ней расширением суши.

В среднем миоцене Кавказский остров возвышается и становится гористым. Возвышаются и острова Закавказского архипелага, а Дзирульский район превращается в поднятие (Геология СССР, т. X, Грузинская ССР, 1964), которое начинает играть важную роль в обособлении западно-грузинской (Колхидской провинции). Широкое распространение получает в это время платибелодонтовая фауна [10], в состав которой, помимо довольно эврибиотных форм (амфицион, хемцион, псевдэлурус, ацератерий, гомфотерий и др.), входят явные обитатели влажных биотипов (платибелодон, кубанохерус, буволистрондон, кауказотерий, парадироцерус и др.), а также редколесий или более открытых и сухих пространств (разнообразные хомяки, бовиды, паранхитерий, белявина и др.). В первой половине среднего миоцена Кавказский остров был, не-

сомненно, связан с Малой Азией. При этом скорее всего через Горийский район Восточной Грузии, где в тарханских отложениях были найдены остатки сравнительно крупного носорога, принадлежащего, по-видимому, ацератериннам. По этому «мосту» и пришла на Кавказ платибелодонтовая фауна.

Во флоре второй половины среднего миоцена Грузии преобладают вечнозеленые цветковые. Особенно часто встречаются лавровые и лавролистные таксоны. Многочисленны остатки *Mugica*, часть видов которой создавали, видимо, кустарниковые заросли вдоль русел рек, на интразональных открытых местообитаниях [1].

Травянистые, исключая папоротники, отмечаются редко. Найдены единичные пыльцевые зерна *Nuphar*, *Sparganium*, неопределенных до рода лилейных (0,5%), сложноцветных (1—15%), зонтичных (0,5—1,5%), злаковых (0,5—1%), *Artemisia* (0,5—1%), *Plantago* (1%). Слишком незначительно разнообразие и слишком малочисленна пыльца их, чтобы иметь основание для предположения существования открытых пространств. Тем не менее реальность таковых не исключена, хотя бы в силу постепенного, но неуклонного разрастания суши. Что касается фауны наземных млекопитающих, то, несмотря на скудность данных (находки в карагане Западной Грузии), они все же так позволяют предполагать некоторое обновление ее состава: присутствие, наряду с *Gomphotherium angustidens*, *Listriodon* sp., *Deinotherium* cf. *levius* и *Aceratherium* sp. (Gabunia, 1980). Следует отметить, что все эти формы, за исключением ацератерия, обитали, вероятно, в относительно влажных биотопах. В позднем миоцене в некоторых районах Восточного Паратетиса намечалась, как известно, аридизация климата. Начинаясь сокращение сарматского полуморского бассейна обусловило возникновение обширных континентальных площадей и новых связей наземных млекопитающих. На Кавказе продолжались поднятия, которые к концу среднесарматского (бессарабского) века привели к полному прекращению существования Закавказского пролива

и установлению на большей части территории Грузии и всего Закавказья наземной обстановки [18].

В сущности именно в сарматских флорах Грузии, в особенности Восточной, отчетливо проявилось влияние тех изменений в палеогеографической обстановке, которые были вызваны штирийской орофазой. Так, не менее влажносубтропические лавровые леса продолжали быть одними из характернейших и широко распространенных лесов Грузии раннего и среднего сармата. Все явственнее начинают проступать следы и субксерофильной растительности. Примечательно, что если в Западной Грузии субксерофильные растения предстают как сопутствующие породы [16, 22], то в Восточной они могут рассматриваться как ландшафтообразующие [19, 26]. Сведения о раннесарматской фауне наземных млекопитающих Кавказа полностью отсутствуют, но если судить по отдельным находкам в Черноморско-Каспийской полосе [15], то можно заключить, что в это время в Восточном Паратетисе продолжала существовать анхитериевая фауна с преимущественно лесными формами. Со второй половины среднего сармата распространяется гиппарионовая фауна, уже в позднем сармате (около 10 млн. лет тому назад) достигшая большого разнообразия — главным образом за счет расцвета копытных.

Самые ранние гиппарионовые фауны все еще отражают условия относительно влажного климата. Для лесных и лесостепенных ландшафтов этого времени были характерны многочисленные и довольно крупные насекомоядные, мелкие зайцы и выхушки, наземные белычьи, бобры, кристиды, первые мыши, дейнотерии, херолофонды, схизохерусы, лагомеряжсы, цервавитусы, гиппарионы, ацератерии, палеотрагусы и др. [11, 29].

В позднем сармате во многих районах Восточного Паратетиса отмечается ведущая роль травянистой растительности, но на Кавказе и, в частности, в Закавказье позднесарматские спорово-пыльцевые комплексы по-прежнему отличаются высоким содержанием древесных пород, указывающих на значительную облесенность и довольно влажную обстановку. Впрочем здесь эти комплексы





отвечают, скорее всего, лесной флоре горных местностей с их разнообразием экотопов. Так обстоит дело, в частности, в Южной Грузии, откуда известна исключительная по богатству гондердзская флора, все еще характеризующаяся разнообразием лавровых и высоким содержанием других вечнозеленых цветковых, сочетающихся с хвойными и летнезелеными лесами умеренного пояса гор. Данные спорово-пыльцевого анализа свидетельствуют о наличии здесь и травянистой растительности [14, 21, 24, 28].

В целом гиппарионовая фауна позднего сармата отвечает обстановке лесостепи. В ее состав, наряду с такими лесными формами как дейнотерий, херолофодон, микростоникс, цервавитус, протрагэлафус и др., входят гиппарионы (два вида), газели, палеотрагусы, самогерий, трагореас, грекорикс, прокапра и другие обитатели открытых пространств. Надо признать, однако, что в некоторых позднесарматских комплексах Грузии, в частности в эльдарском, сохраняется заметная роль представителей лесных сообществ, с чем согласуются данные по соответствующей ископаемой флоре, указывающей на климат с повышенной влажностью воздуха [25]. Тем не менее широкое развитие в конце сармата и в начале мэотиса (около 9 млн. лет тому назад) открытых пространств, занятых травянистой растительностью, едва ли поддежит сомнению [13].

Следует подчеркнуть, что несмотря на господство в ранне- и среднесарматских флорах Закавказья влажно-субтропических и влажнотеплоумеренных пород, степень их участия в сложении растительного покрова различных частей этой территории далеко не одинакова. Особо значительны различия во флорах отдельных областей по содержанию умеренных и субсерофильных форм. Самой низкой примесью субсерофильного элемента, как мы уже отмечали, отличается растительность Западной Грузии, которая вплоть до плейстоцена сохраняла поразительное богатство флоры, типологическое многообразие лесов и таксономическую насыщенность слагавших их древостоев. На протяжении мэотиса

и всего плиоцена, темпы изменения флоры здесь чрезвычайно низкие, вызывая на определенную стабильность палеогеографической обстановки, сохранение высокой влажности климата и равномерности температур. Несмотря на то, что тафономические условия не благоприятствовали сохранению ископаемых остатков позвоночных, можно не сомневаться в том, что и фауна млекопитающих оставалась в Западном Закавказье консервативной (некоторым указанием на это может служить находка в нижнем плиоцене Абхазии какого-то мелкого представителя трагулид).

Как известно, в раннем мэотисе гиппарионовая фауна достигла в Восточном Паратетисе подлинного расцвета [11]. Ведущее положение в ее составе начали приобретать обитатели травянистых равнин — гиппарионы, газели, различные группы антилоп и др. Из мелких млекопитающих здесь были представлены прыгунчики, мыши, хомяки, слепыши, населявшие, вероятно, ландшафт саванского типа с хорошо развитой кустарниковой растительностью [3].

В мэотисе Восточной Грузии гиппарионовые комплексы были менее богаты и разнообразны, чем в Молдавии и на юге Украины, но и в них отмечается увеличение роли копытных, обитающих в открытых степях (Аркнети, Дзедзвта-Хеви и др.). Гирь этом здесь, как и в западной части Восточного Паратетиса, прослеживаются ранний и поздний этапы развития мэотической гиппарионовой фауны, отражающие постепенную аридизацию климата и увеличение площади открытых пространств. В позднем мэотисе уже окончательно сформировались сообщества травянистых равнин, где господствующее положение стали занимать относительно тонконогие гиппарионы и различные бовиды.

Сложившаяся в Восточной Грузии палеогеографическая обстановка [18] сохранялась, по всей видимости, и в раннем понте (низы плиоцена советских авторов), что подтверждается как данными палинологии, так и палеонтологией млекопитающих. Относимая нами к раннему понту базальтская гиппарионовая фауна, несомненно, близка к позднемэотическим



комплексам, а спорово-пыльцевые ассоциации отражают условия полуоткрытых и открытых стадий. Начиная с середины понта Эвксинский и Каспийский бассейны полностью отчленились друг от друга и резко стали вырисовываться региональные различия основных областей Кавказа, заметнее стала широтная дифференциация растительного покрова. Средне-позднеплиоценовые и киммерийские млекопитающие в Закавказье почти не известны. Заслуживает упоминания лишь очень незначительный материал по среднеплиоценовой (предположительно) фауне Нуриуса в Армении. Однако, судя по ставропольскому (Северный Кавказ) и некоторым другим комплексам Восточного Паратетиса, можно предполагать, что в киммерии, по крайней мере, здесь уже была распространена фауна руссильонского типа.

Позднеплиоценовый этап истории наземных млекопитающих в Восточной Грузии достаточно полно охарактеризован квабеской фауной ачкагыльских млекопитающих [5, 11]. В состав ее, наряду с представителями ранневилафранкской фауны Западной Европы, входит ряд форм азиатского происхождения (большинство бовид, пропотамохерус, рысь и др.), проникших на территорию Закавказья из Малой Азии, и такие эндемики, как квабегигракс, ойцерос и др.

В конце среднего и, возможно, в позднем ачкагыле с ананкусами уже сосуществуют архидискодоны, а фауна мелких млекопитающих, по Л. П. Александровой [4], представлена *Mimomys ex gr. polonicus* и *Villania cf. retenui* (Акстафа, Западный Азербайджан). Начало плейстоцена (ранний аншерон) характеризуется присутствием типичной *Equus stenorhis*, *Archidiskodon meridionalis taribanensis*, *Leptobos sp.*, *Protoryx sp.*, *Strutio sp.* и др. (Тарибана, Восточная Грузия). В Юго-Восточной Грузии хорошо известны более поздние комплексы раннего плейстоцена (скорее всего, позднесарматские). Это Дманисская и, возможно, несколько более молодая, ахалкалакская фауны, содержащие *Equus ex gr. altidens*, *E. siss-*

*senbornensis*, архидискодона, *страуса* и др.

В конце позднего плиоцена и в начале плейстоцена в Юго-Восточной Грузии происходили поднятия, сопровождающиеся интенсивной вулканической деятельностью и возникновением в долинах рек озерных водоемов (как дманисское, так и ахалкалакское местонахождения раннеплейстоценовых млекопитающих заключены в озерных отложениях). Климат в целом был теплым и умеренно влажным, что не исключало возможности развития в предгорьях и открытых ландшафтов степного типа. В это же время Колхида продолжала оставаться одним из редчайших останцев первоначального ареала реликтов древней лесной флоры Грузии. В постчаудинское время, однако, здесь прослеживаются такие ускоренные темпы преобразования во флоре и растительности, равных которым не наблюдалось, пожалуй, во всей геологической предистории этой флористической провинции [27].

Таким образом, из приведенного обзора явствует, что вторая половина среднего сармата и поздний сармат — время формирования региональных особенностей флоры Грузии и всего Закавказья. В это время уже четко выделяется Восточно-Закавказская биогеографическая провинция, палеообстановка которой испытывает, в отличие от Колхидской, существенные изменения на протяжении всего позднего кайнозоя.

Характерно, что в позднем кайнозое направленность изменений в наземном органическом мире Восточной Грузии совпадала, в общих чертах, с ходом развития биоса всей полосы Паратетиса. Однако Западная Грузия, по консервативности и поразительно низким темпам преобразования растительности, вплоть до чаудинского века носила черты обособленности даже среди рефугиумов третичных лесных флор северного полушария. Все это, естественно, не могло не отразиться и на истории наземных млекопитающих, но для территории Западного Закавказья она

нам, к сожалению, почти не известна. Остается лишь предполагать, что на протяжении плиоцена здесь должны были преобладать обитатели влаж-

ных стадий. Это тем более вероятно, что в Колхиде лесные формы преобладали господствовать и в плейстоценовых комплексах позвоночных.

## ЛИТЕРАТУРА

1. Аваков Г. С. Миоценовая флора Мецниереба, «Мецниереба», Тбилиси, 1979.
2. Аваков Г. С. Эоценовая флора Ахалцихе, «Мецниереба», Тбилиси, 1989.
3. Агаджанян А. К. В кн.: Стратиграфия СССР. Неогеновая система, М., 1936, т. 2; 327—347.
4. Александрова Л. П. Бюлл. комиссии по изуч. четвертич. периода, «Наука», М., 1974, 41, 171—173.
5. Векуа А. К. Квабобская фауна ачкагыльских позвоночных, «Наука», М., 1972.
6. Габриелян А. А., Габуния Л. К. ДАН Арм. ССР, XXXVIII, 4, 187—189, 1959.
7. Габуния Л. К. Природа, 4, 109—111, 1953.
8. Габуния Л. К. ДАН СССР, 116, (1), 137—140, 1957.
9. Габуния Л. К. Бенарская фауна олигоценых позвоночных, «Мецниереба», Тбилиси, 1964.
10. Габуния Л. К. Беломечетская фауна ископаемых позвоночных, «Мецниереба», Тбилиси, 1973.
11. Габуния Л. К. Стратиграфия СССР, Неогеновая система, 2, 310—327, 1986.
12. Габуния Л. К., Векуа А. К., Бугианишвили Т. В. Изв. АН ГССР, сер. биол., 14, 5, 344—349, 1988.
13. Джабарова Х. С. Флора и растительность Западного Азербайджана в верхнемиоценовое время (по палинологическим данным), Изд. АН Аз. ССР, Баку, 1957.
14. Джигаури Д. Г., Челидзе Л. Т., Карашвили Б. И. Сообщения АН ГССР, 85, 3, 733—736, 1977.
15. Дуброво И. А., Канеллист К. В. Каталог местонахождений третичных позвоночных УССР, «Наука», М., 1979.
16. Колаковский А. А., Шакрыл А. К. Тр. Сухум. ботан. сада, XXII, 1976, 98—148.
17. Малигонова Е. Ю. В сб.: Палинологические таксоны в биостратиграфии. Изд. Саратовского университета, 1989, 74—81.
18. Невеская Л. А., Ахметьев М. А., Баранова Ю. П. В кн.: Стратиграфия СССР, Неогеновая система, М., 1986, 308—422.
19. Палибин И. В. Сарматская флора Восточной Грузии (Материалы Центр. геол. разв. ин-та), Палеонтология и стратиграфия, М.—Л., 1933, 25—42.
20. Панова Л. А., Малигонова Е. Ю., Табачникова И. П. В сб.: Споры и пыльца в отложениях фанерозоя, Тр. ВСЕГЕИ, н. серия, 1984, 327, 74—93.
21. Тахтаджян А. Л. Палеоботаника, IV, 191—204, 1963.
22. Узнадзе М. Д. Неогеновая флора Грузии, «Мецниереба», Тбилиси, 1935.
23. Узнадзе М. Д. Некоторые данные об эоценовой флоре окрестностей г. Ахалцихе (Грузинская ССР). Сообщения АН ГССР, 46, 1, 131—134, 1967.
24. Узнадзе М. Д., Цагарели Е. А. Сарматская флора ущелья реки Дзидза, «Мецниереба», Тбилиси, 1979.
25. Фаталиев Р. А. Верхнесарматская флора горы Катар в междуречье Куры и Иори, Автореф. канд. дисс. Л., 1964.
26. Челидзе Л. Т. Позднемиоценовая флора и растительность Закавказья, «Мецниереба», Тбилиси, 1957.
27. Чочиева К. И. Ископаемые Taxodiaceae Колхиды, «Мецниереба», Тбилиси, 1985.
28. Шилкина И. А. Палеоботаника, III, 125—178, 1985.
29. Gabounia L. K. XXVI Congres géol., Paris, 1981, 195—204.
30. Векуа А. К. Palaentographia Italica Pisa, 74, 63—96, 1986

ლ. გაბუნია, კ. ჩოჩივა

საქართველოს მეცნიერებათა აკადემიის ლ. დავითაშვილის სახელობის  
პალეობიოლოგიის ინსტიტუტი, თბილისი

## რ ე ზ ი უ მ ე

მცირე ტენიანი გაშლილი სივრცეების მცენარეულობა ევრაზიაში ფართოდ მხოლოდ მესამეულის შუა ნაწილიდან გავრცელდა. ჩლიქოსანთა მიერ ამ სივრცეთა ათვისება და ბალახოვნებით კვებასთან შეგუება ხორციელდებოდა მათი აგებულების ძირეული გარდაქმნის გზით, რაც უშუალოდ გამოიხატება კბილის აპარატის, თავის ქალასა და კიდურების მორფოლოგიურ ცვლილებებში. ძუძუმწოვართა ამ ჯგუფის ევოლუციის მჭიდრო კავშირი ბალახოვანი ველების განვითარებასთან იმაზე მიუთითებს, რომ ბალახოვანი მცენარეულობა და ჩლიქოსნები ერთი ეკოსისტემის კომპონენტებს წარმოადგენდნენ. ამ ეკოსისტემის განვითარება და მისი ცვლილებების ხასიათი მნიშვნელოვნად იყო დაკავშირებული იმ გეოლოგიურ პროცესებთან, რომელთაც არსებითი პალეოგეოგრაფიული ცვლილებები გამოიწ-

ვიეს. მოცენურ დროს აქვატორიუმის მკვეთრი შემცირებით განპირობებული ორგანული სამყაროს მნიშვნელოვანი გარდაქმნა მკაფიოდ აისახა საქართველოს ფლორისა და ფაუნის ისტორიაშიც, ისევე როგორც თითქმის მთელი შავი ზღვა—კასპის ზღვის ზოლში, უკვე შუასაბრტულიდან მოყოლებული. სწორედ ამ დროიდან დაიწყო აქ ბალახოვანი მცენარეებისა და გაშლილი სივრცეების ბინადარი ძუძუმწოვრების ერთდროული და თანდათანობითი გავრცელება.

ამიერკავკასიის ზოგიერთ რეგიონში ბალახიმჭამელი ძუძუმწოვრების ინტენსიურ გავრცელებასთან ერთად პლინიზნება პალეოლანდშფტების გარდაქმნის მაღალი ტემპი, რაც შესაძლოა თვით ძუძუმწოვრების მცენარეულ საფარზე ზემოქმედებით იყო გამოწვეული.

## CONJUGATED EVOLUTION OF VEGETATION AND VERTEBRATES OF GEORGIA IN LATE CENOZOIC

L. GABUNIA, K. CHOCHIEVA,

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

### Summary

Plant assemblages of open spaces of relatively low humidity became widespread in Eurasia in the mid-Tertiary period stimulating the intensive radiation of Perissodactyla and Artiodactyla. Together with the occupation of herbaceous plains by different groups of ungulates and their adaptation to a coarse food, major changes occurred in the whole organization of these animals. The close correlation bet-

ween these changes and the process of the evolution of herbaceous plains shows that herbaceous vegetation and ungulates feeding on it belong to one ecosystem. The evolution of this ecosystem and the character of its transformations were to the great extent determined by the geological processes causing changes in paleogeographical environment. Those regional discrepancies in the evolution of or-



ganic realm of the Eastern Paratethys, which can be distinctly observed from Middle Sarmatian, can be correlated with the increased intensity of orogenetic movements and related to the diminishing of the Miocene aquatorias. In spite of the fact that data on herbaceous of Miocene floras are relatively scanty, the existence of open spaces in Late Sarmatian in the whole Eastern Paratethys is undoubted.

There is a reason to believe that in Georgia they started to evolve as arboreal sparse forests. In Pliocene (probably from its second part) steppes also occur in the Eastern Transcaucasus. It is characteristic that with the appearance of herbivorous mammals in Georgia accelerated transformations of its landscapes are observed, which is a distinct manifestation of their effects on the vegetation cover.

УДК 579.873.21.017.6

МИКРОБИОЛОГИЯ

## ИЗУЧЕНИЕ ПАРАМЕТРОВ РОСТА И РАЗВИТИЯ RHODOCOCCLUS SP.-44 В ПЕРИОДИЧЕСКОЙ КУЛЬТУРЕ

Э. О. Хачапуридзе, Н. П. Чантурия, А. Н. Милорава,  
К. Н. Гивишвили, Г. Я. Дараселия

*Институт биохимии растений АН Грузии, Тбилиси*

Поступила в редакцию 22.02.91

Изучены основные параметры роста, развития, каротиногенеза и состава реакционной среды при периодическом культивировании *Rhodococcus* sp.-44 на синтетической среде. Установлено пять фаз развития культуры. С помощью определения кинетических параметров — удельной скорости роста, метаболического и экономического коэффициентов — показано, что при росте культуры на синтетической среде наблюдается ярко выраженное явление диауксии и обнаружена двухфазность процессов активного образования биомассы, белка с одной стороны и каротиногенеза с другой.

Факторы, оказывающие влияние на рост и развитие микроорганизмов, можно условно подразделить на две группы: внутриклеточные, связанные с биохимией, физиологией микроорганизмов, и внеклеточные факторы, то есть условия внешней среды клетки.

Цель нашей работы с помощью детального изучения кинетических параметров охарактеризовать общую картину влияния этих двух факторов на рост и развитие *Rhodococcus* sp.-44 и на его биосинтетические способно-

сти. Наш интерес возрастает еще потому, что нет литературных данных о культивировании родокков на различных питательных средах в условиях глубинного культивирования в ферментерах. Имеются отдельные работы с близкородственными организмами, относящиеся к нокардиоподобным бактериям, в частности *Mycobacterium phlei* [3, 9]. Но и в этих работах нет полного анализа кинетических характеристик, раскрывающих свойственные культуре особенности.

### МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ

Объектом исследования служила культура *Rhodococcus* sp.-44 — продуцент каротиноидов. Указанный штамм получен нами ранее методом химического мутагенеза и ступенчатой селекции [4]. Для культивирования использовали синтетическую питательную среду следующего состава (г/л): мочевины — 1,5; глюкоза — 30,0; сахароза — 10,0;  $\text{Na}_2\text{HPO}_4$  — 4,0;  $\text{MgSO}_4$  — 1,0;  $\text{FeCl}_3$  — 8 мг/л;  $\text{V}_1$  — 1,0 мг/л; кислотный гидролизат того же штамма — 2 мл/л.

Посевным материалом служила вегетативная культура, находящаяся в стадии экспоненциального роста. Количество вносимого посевного материала составляло 3%.

Опыты проводили в аппаратуре АНКУМ-2М, с рабочим объемом 7 л при скорости вращения мешалки 600 об/мин и аэрации 0,20 л/л среды мин. Пробы брали через каждые 4—6 ч. Количество биомассы определяли весовым методом, рН — потенциометрически, редуцирующие веществ-



ва — по Бертрону, аминный азот — методом формального титрования [2], фосфор — по общепринятой методике [1], каротиноиды — по разработанной нами методике [4], белок в биомассе — по Петерсону [12]. Парамет-

ры роста и развития — удельная скорость роста, скорость синтеза каротиноидов, экономический и метаболический коэффициенты — по общепринятым методам [8].

## РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

После засева, через 2—3 ч, заметный рост клеток не происходит. Минутная лаг-фаза культура начинает рост по экспоненциальному закону. Через 22 ч происходит замедление роста, а к 70 ч культура переходит в стационарную фазу развития. Экспоненциальная фаза, которая наступает после недолгой лаг-фазы, характеризуется явно выраженной нестабильностью. Интенсивный рост сменяет замедление развития, а затем рост вновь становится активным во второй половине

интервале 4—10 ч, второй  $\mu_2=0,03$  ч<sup>-1</sup> в интервале 46—52 ч. Кроме того, первый пик соответствует максимальному значению удельной скорости роста для всего процесса культивирования, т. е.  $\mu_{max}=0,15$  ч<sup>-1</sup>. Это объясняется тем, что культура именно в первой половине экспоненциальной фазы роста снабжается питательными веществами, а концентрация популяции значительно ниже и поэтому она не оказывает угнетающего воздействия на рост. Замедле-

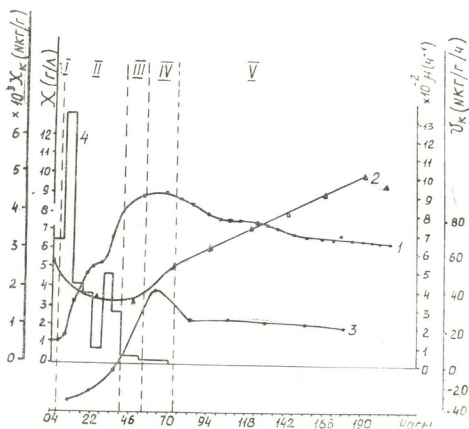


Рис. 1. Динамика роста и биосинтеза каротиноидов *Rhodococcus* sp.-44 на синтетической среде: 1—биомасса,  $x$  (сухое вещество); 2—общее количество каротиноидов,  $X_k$ ; 3—скорость синтеза каротиноидов,  $V_k$ ; 4—удельная скорость роста,  $\mu$ ; I—V—фазы развития культуры

фазы. Это явление наглядно выражено на графике удельной скорости роста (рис. 1), на котором выделяются два пика в соответствующих интервалах времени. Первый  $\mu_1=0,15$  ч<sup>-1</sup> в

период роста культуры в середине экспоненциальной фазы связано с увеличением плотности популяции и уменьшением до минимума концентрации глюкозы, а также с периодом адап-

тации ферментной системы клеток на усвоение второго субстрата — сахарозы. Подобное явление не приходится отрицать, поскольку это было подтверждено экспериментально при внесении отдельно глюкозы и сахарозы как единственных источников углерода, где указанные выше колебания в росте культуры не наблюдались.

экспоненциальной фазе). Фаза замедления роста длится 12 ч, после чего культура переходит в стационарную фазу и количество биомассы достигает своего максимума ( $X_{\max} = 15$  г АСБ/л). В этих условиях популяция приспосабливается к измененным условиям среды, переходит в сравнительно стабильное состояние, наблюдается

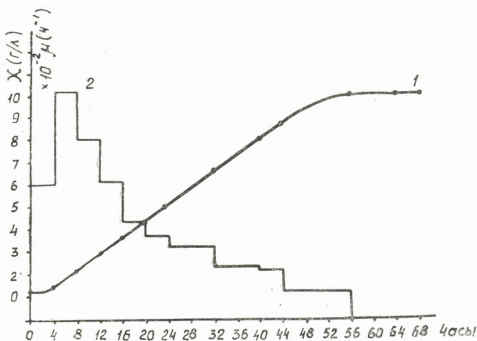


Рис. 2. Удельная скорость и динамика роста *Rhodococcus* sp. - 44 на глюкозе, 1— $X$ , 2— $\mu$

На рис. 2 представлена динамика роста и удельная скорость культуры при выращивании на глюкозе. Экспоненциальная фаза роста здесь более стабильна и однозначна, что и является подтверждением вышесказанного. Таким образом, в наших экспериментах подтверждается известный в литературе факт, что во время роста микробных культур потребление нескольких источников углерода и энергии происходит не одновременно, а последовательно. Сходные результаты были получены другими авторами и на таких объектах, как *B. thuringiensis* [10] и *C. utilis* [11].

В фазе замедления роста концентрация популяции значительно выше, чем начальная, что и является определенной причиной затруднения обеспечения клеток культуры продуктами питания. Помимо этого, значительно затрудняется доступ кислорода, что выражается в уменьшении парциального давления —  $pO_2$  до 20% (80% в

динамичное равновесие между размножением и отмиранием клеток, а затем тенденция к ее уменьшению.

В процессе выращивания культуры значение pH среды к 24—28 ч культивирования достигало 7,0—7,2, затем снижалось до 6,7—6,8 к 49 ч и держалось на этом уровне до конца культивирования. К 50 ч культура утилизирует 80% азота мочевины. Потребление фосфора максимально к 60—65 ч роста, а содержание белка достигает своего максимума к 70 ч культивирования и составляет 70%.

Скорость усвоения сахаров (метаболический коэффициент) и экономический коэффициент соответствуют описанному выше росту и развитию культуры в экспоненциальной фазе. Значение уменьшается от 0,37 до 0,08  $ч^{-1}$ , а затем вновь увеличивается до 0,12  $ч^{-1}$  — в связи с активацией усвоения второго субстрата. Аналогичные колебания наблюдаются и в значениях экономического коэффициента.



Два его экстремальных значения (численно равны 0,5 и 0,7) соответствуют самым активным моментам роста популяции, когда  $V_{\max}$  — удельная скорость роста максимальна. Нужно отметить, что интегральное значение экономического коэффициента, рассчитанного по начальным и конечным значениям для биомассы и субстрата (его можно назвать величиной экономического коэффициента в период с начала культивирования до достижения популяцией максимальной плотности),  $Y_{\text{ср}} = 0,35$ .

тивностью, находясь в наилучшем физиологическом состоянии, когда удельная скорость роста максимальна.

По аналогии с определением скорости роста биомассы вычисляли скорость накопления каротиноидов. О скорости синтеза каротиноидов судили по увеличению содержания пигментов в 1 г АСБ за час. Определенные скорости роста и скорости синтеза пигментов по фазам роста биомассы показало, что их максимумы не совпадают.

В период лаг-фазы и экспоненци-

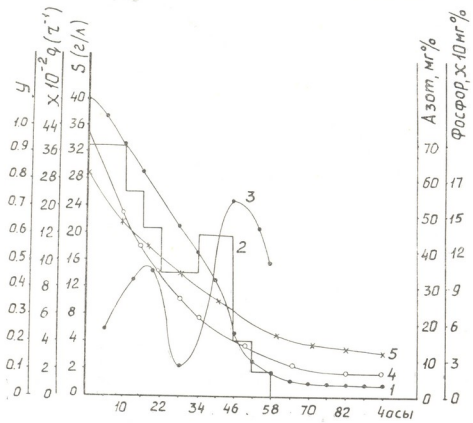


Рис. 3. Метаболические показатели роста *Rhodococcus* sp.-44 на синтетической среде: 1—сахар, S; 2—метаболический коэффициент потребления субстрата, q; 3—экономический коэффициент выхода биомассы по субстрату, Y; 4—фосфор, 5—аммиачный азот, N

Как известно, для значительного числа субстратов рассчитано теоретически возможное максимальное значение экономического коэффициента [5]. Теоретически допустимые значения основываются на материально-энергетическом балансе субстрата и продукта биосинтеза. Из рис. 3 видно, что экстремальные значения экономического коэффициента для данной культуры теоретически приближаются к предельным значениям. Из этого следует, что популяция усваивает субстрат с максимальной эффек-

тивной фазы в клетках происходит снижение концентрации пигментов. Максимум скорости роста культур наблюдается в экспоненциальной фазе, тогда как синтез пигментов достигает наибольшей скорости в фазе замедления роста (60—70 ч) и  $V_{\text{к, макс}} = 75$  мкг/г.ч. Количество эпифазных (собственно каротинов) пигментов достигает 60% от общей суммы пигментов. К 120—130 ч развития культуры количество пигментов гипофазы (ксантофиллы) увеличивается. Аналогичная закономерность наблюдается у



мицелиальных грибов [7] и дрожжей [6], синтезирующих каротиноиды.

В фазе биосинтеза каротиноидов у исследуемого объекта, вероятно, идет активация уже существующих ферментов. Однако, не исключено, что синтезируются и новые ферменты, участвующие в процессе биосинтеза каротиноидов. Более того, по-видимому, параллельно идет процесс и превращения собственно каротиноидов в окисленные формы — оксикаротиноиды. Подтверждением сказанного является интенсивное увеличение

общего количества каротиноидов за счет увеличения пигментов филлов.

Таким образом, установлено, что интенсивное накопление пигментов в клетках *Rhodococcus* sp. штамм-44 не свойственно культуре в период активного образования биомассы, наблюдается разобщенность между этими двумя процессами по времени. В связи с этим синтез каротиноидов *Rhodococcus* sp. штамм-44 следует рассматривать как процесс вторичного метаболизма.

## ЛИТЕРАТУРА

1. Баславская Л. Д., Трубецкова И. Н. Практикум по физиологии растений, М., «Сов. наука», 1964.
2. Белозерский А. Н., Проскуряков Н. И. Практическое руководство по биохимии растений, М., «Сов. наука», 1951.
3. Возняковская Ю. М., Позднякова А. И., Смирнова М. Ф., Дараселия Г. Я. Комплексный микробный каротино-витаминный препарат для подкормки животных и птиц и его биологическая и экономическая эффективность. Деп. № 3, ВИНТИ, Ленинград—Пушкино, 1979.
4. Дараселия Г. Я. Микробиология, 51, 6, 968—972, 1982.
5. Ерошин В. К. Лимитирование и ингибирование микробиологических процессов, Пушкино, 1980.
6. Квасников Е. И., Васкивиюк Т. В., Суденко В. И., Гринберг Т. А. Каротинсинтезирующие дрожжи, «Наукова думка», Киев, 1980.
7. Колот Ф. Б. Исследование по биосинтезу  $\beta$ -каротина грибами, Автореф. канд. дисс., М., 1969.
8. Перт С. Дж. Основы культивирования микроорганизмов и клеток, «Мир», М., 1978.
9. Позднякова А. И. Биосинтез каротиноидов *Mycobacterium phlei* в условиях глубинного культивирования, Автореф. канд. дисс., Ленинград, 1973.
10. Сахарова З. В., Игнатенко Ю. М., Шульц Ф. Микробиология, 54, 4, 604—608, 1985.
11. Vorman E. J., Christer A., Ruckbaueil J. Proc. 7 the Sympos., held. Prague, 1980.
12. Peterson A. L. Anal. Biochem., 83, 346—349, 1977.

## ზრდა-განვითარების მახასიათებელი პარამეტრების შესავალი *RHODOCOCCUS* Sp.-44 პერიოდულ კულტურაში

ბ. ხაბაშვიმი, ნ. ზანტური, ა. მილორაზა, ძ. გივიაშვილი, ზ. დარასელია

საქართველოს მეცნიერებათა აკადემიის მეცნიერთა ბიოქიმიის ინსტიტუტი, თბილისი

რ ე ზ ი უ მ ე

შესწავლილია ზრდა-განვითარების, კაროტინოგენეზისა და სარეაქციო არის შემადგენლობის ძირითადი მახასიათებლები *Rhodococcus* sp.-44 პერიოდული კულტივირებისას სინთეზურ არეზე.

დადგენილია 5 ფაზა კულტურის ზრდა-განვითარებაში. კინეტიკური პარამეტრების (ზრდის ხვედრითი სიჩქარე, მეტაბოლიტური და ეკონომიკური კოეფიციენტე-

ბი) განსაზღვრის საშუალებით ნაჩვენებია, რომ კულტურის სინთეზურ არეზე გამოზრდის პირობებში შეინიშნება კარგად გამოხატული დიაუქსიის მოვლენა. ამასთან გამოიყოფა ორი ფაზა ერთის მხრივ ცილისა და ბიომასის აქტიური წარმოქმნისა და მეორეს მხრივ კაროტინოიდების ბიოსინთეზის პროცესებში.

## STUDY OF CULTIVATION AND DEVELOPMENT CHARACTERISTIC PARAMETERS IN RHODOCOCCUS SP.44 PERIODICAL CULTURE

E. KHACHAPURIDZE, N. CHANTURIA, A. MILORAVA,  
K. GIVIASHVILY, G. DARASELIA

Institute of Plant Biochemistry, Georgian Academy  
of Sciences, Tbilisi

### S u m m a r y

Principal characteristics of cultivation and development, carotino-genesis and reaction medium content were studied during periodical cultivation on synthetic medium.

5 phases of the cultivation and development of culture were determined. Kinetic parameters—specific speed of growth,

metabolic and economic coefficients were estimated. It is shown that when cultivated on synthetic medium diaux phenomenon is observed very well. Two phases can be distinguished well—active formation of protein and biomasses is the first phase and that of carotinoids in biosynthesis is the other one.



### ავტორთა საპროცედინგო

1. ეტრანლი იხებდება დასრულებული ექსპერიმენტული და თეორიული ნასათის ორ-გინალური ნაშრომები ბიოლოგიის დამატებელი დაჩეგბის შიხედით; შიშობილითი სტა-ტები, შიშობილებული რედაქციის შეეეით; შიულ წერილები და რედაქციები; ეტრანლი შეეედება ჩატარებული სამეცნიერო-სარეგინატიო ღონისძიებების წრონა.
2. ექსპერიმენტული ნაშრომების შიკლებია ცხრილებით, ნახატებით, ნახატების ქვეწარ-წერილებით, ლიტერატურის სითა და რეზიუმეებით რუსულ და ინგლისურ ენებზე არ უნდა აღემატებოდეს ორი ინტერვალით დაბევილი (შარცხენა ევილიდან 3 სმ დასრულებით) 12 გვრდზე. ნახატების რაოდენობა არ უნდა აღემატებოდეს 5-ს. შიშობილითი სტატიის შიკ-ლებია დასაშუალო 24 გვრდამდე. შიულ წერილობა — 4 გვ. შიულ წერილს შეიძლება და-ერთოს 1—2 ნახატი.
3. რეზიუმე რუსულ და ინგლისურ ენებზე (არ უნდა აღემატებოდეს ერთ გვრდს), ლიტე-რატურის სია, ცხრილები და ნახატების ქვეწარწერები წარმოდგენილი უნდა იყოს იტ-ცალკე ფურცლებზე.
4. ედმას (არ ეგზეშლარად) თან უნდა ერთოდეს დაწესებულების შიშართვა და სა-ექსპერტო კომისიის დასკვნა. შირველ გვრდზე შარცხენი უნდა ეწეროს უკის ინდექსი, შარცხ-ენი — ბიოლოგიის დარგი, შემდეგ სტატიის დასახელება, ავტორების ინიციალები და გვარები, იმ დაწესებულების დასახელება, სადაც შესრულდა ნაშრომი, და შიულ ანოტაცია (0.5 გვრ-დი). სტატიის ზელს აწერს ყველა ავტორი. სტატიის ბოლის სრულად უნდა იყოს აღნიშნული ავტორთა სახელი, შიშის სახელი და გვარი, ბინისა და სასახტრის შიშასახით და ტელეფონის ნომერი.
5. სტატია უნდა შეიცავდეს შესავალს, შიოლიას, ეკლვის შედეგებს და შედეგების განხილვას.
6. ილუსტრაციები — შიფიო ფოტოები, ნახატ გრაფიკები, შესრულებული თეორ ში-ლადზე ან ცალკეზე, წარმოდგენილი უნდა იქნეს ორ ეგზეშლარად. ილუსტრაციებზე წარ-წერები შესრულებული უნდა იყოს ტუშით. ილუსტრაციის ექანა შიარჩი თანწრით აღნიშნული უნდა იყოს შილი ნომერი, ავტორის გვარი და სტატიის შემოკლებული დასახელება (ეტიკეტი-ლიის ურთხივეკაში აღნიშნოს ზეშო და ქვეშო შიარჩები).
7. კიტირებელი ავტორების გვარები ტექსტში შიუენილი უნდა იყოს სტატიის შესაბა-შის რეასტრუქციით, ლიტერატურის სიაში კი — ორიგინალური ტრანსკრიფციით. ლიტერატ-ურების სია გვდება ანახის შიხედით შედეგით თანამოდგობით: შიარჩილი, რუსული, ლათი-ურული.
8. რიგითი ნომრის (ტექსტში იგი ევარდატულ ფრჩხილებშია) შემდეგ შიუენილი უნდა იქნეს ავტორის გვარი და ინიციალები, გამოცემის დასახელება; შერადილი გამოცემებისათვის — ტრში, ნომერი, გვრდები, წელი, არამეტიოდლესათვის — გამოცემლობის დასახელება, გა-შოკემის ადგილი, წელი და გვრდები.
9. ზელწარწერები, რომლებშიც არ არის დაცული აღნიშნული წესები და რომლებიც არ შეესაბამება ეტრანლის პროფილს, ებრუნდება ავტორს ყველა სტატია იგზავნება სარე-დაქციოდ.
10. სტატიების კორექტრის გასწორებისას დამატებითი ეკლილებების შეტანა ტექსტში დეუშეებლია.
11. რედაქცია იტოვებს უფლებას შეამკროს და შეასწოროს სტატიის ტექსტი.
12. ავტორის უფსოდ ეძლევა თორმეტი ანახატები.

### К СВЕДЕНИЮ АВТОРОВ

1. В журнале печатаются завершённые, оригинальные работы экспериментального и теоретического характера по утверждённым редколлегией разделам биологии, обзорные статьи, написанные по заказу редколлегии, а также краткие сообщения и рецензии. Периодически в журнале помещается иртакля хроника о проведённых научно-организационных мероприятиях.
2. Объем рукописи экспериментальных работ, включая таблицы, рисунки, подписи к рисункам, список литературы и резюме на грузинском и английском языках (не более одной страницы машинописи на каждом языке), не должен превышать 12 страниц машинописного текста, напечатанного через 2 интервала и поем 3 см с левой стороны. К рукописи может быть приложено не более 5 рисунков. Объем обзорной статьи — 24 страницы, краткого сообщения — до 4 страниц машинописи. Краткие сообщения можно иллюстрировать 1—2 рисунками.
3. Резюме на грузинском и английском языках, список литературы, таблицы и подписи к рисункам должны быть представлены на отдельных листах.
4. Рукопись (в двух экземплярах) должна иметь направление учреждения и заключение экспертной комиссии. На первой странице слева приводятся индексы статьи (УДК), справа — раздел биологии, затем название статьи, инициалы и фамилия авторов, название учреждения, где выполнена работа, и краткая аннотация (не более 0.5 стр.).
5. Статья должна быть подписана всеми авторами. В конце статьи необходимо указать полностью имя, отчество и фамилию авторов, домашний и служебный адреса, телефоны.
6. Статья должна содержать введение, методику, результаты исследований и обсуждение результатов.
7. Иллюстрации — четкие фотографии на глянцевой бумаге и рисованиями графика на кальке или белой чертёжной бумаге — следует представлять в двух экземплярах. Надписи на иллюстрациях должны быть выполнены тушью. На обороте иллюстрации следует обозначить карандашом ее номер, фамилию автора и сокращенное название статьи, а в случае необходимости отметить верхний и нижний край.
8. Фамилии цитируемых авторов следует давать в транскрипции, соответствующей тексту статьи и оригинальной — в списке литературы. Список литературы составляется по алфавиту — вначале грузинскими и русским шрифтом, а затем латинским. После порядкового номера (в тексте статьи он ставится в квадратные скобки) следует давать фамилию и инициалы авторов, название издания, затем: для периодических изданий — том, страницы (от и до), год; для неперiodических — название издательства, место, год издания и страницы.
9. Рукописи, оформленные без соблюдения указанных правил, а также не соответствующие профилю журнала, возвращаются автору. Все рукописи проходят рецензирование.
10. Корректуры статей даются авторам для проверки, правки и визирования. Дополнительные изменения в тексте не допускаются.
11. Редакция оставляет за собой право сокращать и исправлять тексты статей.
12. Авторы получают бесплатно 12 отдельных оттисков.

Цена 2 руб.  
Индекс 76204

617/23

ფასი 2 რიბ.



ISSN - 0321-1665 Изв. АН Грузии, сер. биологическая, 1992, т. 18, № 5, 289-360.