

784-ბ.  
1993



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

№ 78  
(1-3)

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

1993 N1

თბილისი - ტომი  
TBILISI - TOM  
VOL.

19

თეორიული ბიოლოგია  
ადაშიანთა და ცხოველთა ფიზიოლოგია (ნორმ. და პათოლ.),  
მორფოლოგია

ანატომია  
ამბრიოლოგია და ჰისტოლოგია  
ციტოლოგია  
პათოლოგიური მორფოლოგია

ბიოქიმია  
ფარმაკოლოგია  
ბოტანიკა (ექსპ. და თეორ.)  
მცენარეთა ფიზიოლოგია  
ზოოლოგია (ექსპ. და თეორ.)  
ენტომოლოგია  
პარაზიტოლოგია  
ჰელმინტოლოგია  
პალეობიოლოგია  
ბიოგეოცენოლოგია  
ეკოლოგია  
მიკრობიოლოგია  
ვირუსოლოგია  
იმუნოლოგია  
გენეტიკა  
რადიობიოლოგია  
ბიოფიზიკა  
მოლეკულური ბიოლოგია  
ბიონიკა და ბიოკიბერნეტიკა

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

საქართველოს მეცნიერებათა აკადემიის მაცნე  
ИЗВЕСТИЯ АКАДЕМИИ НАУК ГРУЗИИ



# ბიოლოგიის სერია СЕРИЯ БИОЛОГИЧЕСКАЯ

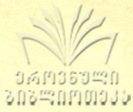
ტომი 19, № 1  
Том

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

თბილისი  
ТБИЛИСИ

„მეცნიერება“  
«МЕЦНИЕРЕБА»

• 1993



**სარედაქციო კოლეგია:**

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

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

**РЕДАКЦИОННАЯ КОЛЛЕГИЯ:**

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

Л. К. Габуния, Н. А. Джавахишвили, М. М. Заалишвили,  
Г. И. Квеситадзе, Б. Е. Курашвили, К. Ш. Надарейшвили,  
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, G. Nakhutsrishvili,  
G. Sanadze, G. Tumanishvili, M. Zaalishvili, I. Eliava

Executive Secretary **S. Labadze**

© Известия АН Грузии  
Серия биологическая, 1993

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 16.12.92. Подписано в печать 5.04.93  
Формат бумаги 70×108<sup>1</sup>/<sub>16</sub>. Бумага № 1. Высокая печать.  
6,3 усл.-печ. л. 7,23 кр.-отт., 4,5 уч.-изд. л.  
Тираж 730 экз. Заказ 1449.

---

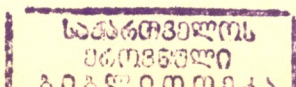
გამომცემლობა „მეცნიერება“, თბილისი, 380060, კუტუზოვის ქ., 19  
Издательство «Мецниереба», Тбилиси, 380060, ул. Кутузова, 19

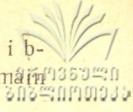
---

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

СОДЕРЖАНИЕ — შობასარი — CONTENTS

- 20.330
- Д. Ш. Давитулиани, А. Г. Корели. Участие холинергических механизмов в эмоциональном поведении кроликов 5  
დ. დავითულიანი, ა. კორელი. ქოლინერგული მექანიზმების მონაწილეობა ბოცვრის ემოციურ ქცევაში
- D. Davituliāni, A. Koreli. Involvement of cholinergic mechanisms in the rabbits' emotional behaviour
- М. А. Мургулия, И. В. Мдивани, Г. Т. Мамаладзе, Г. Г. Матешвили. Значение блокирования синтеза простагландинов для изучения механизмов ишемии миокарда у больных ишемической болезнью сердца 11  
მ. მურგულია, ი. მდვიანი, გ. მამალაძე, გ. მათეშვილი. პროსტაგლანდინების სინთეზის ბლოკირების მნიშვნელობა მიოკარდიუმის იშემიის მექანიზმების შესწავლისათვის გულის იშემიური დაავადებით შეპყრობილ ადამიანებში
- M. Murgulia, I. Mdivani, G. Mamaladze, G. Mateshvili. The importance of prostaglandins synthesis blocking in patients with ischemic heart disease for the study of myocardial ischemia
- М. Г. Жвания, И. М. Какабадзе. Влияние гипокинезии на ультраструктуру глиальных элементов некоторых образований переднего мозга крысы 17  
მ. ჯვანია, ი. კაკაბაძე. ჰიპოკინეზიის გავლენა ვირთაგვას თავის ტვინის ზოგიერთი წარმონაქმნის გლიური ელემენტების ნატივ აღნაგობაზე
- M. Zhvaniā, I. Kakabadze. The influence of hypokinesia on ultrastructure of glial cells in some regions of rat's forebrain
- Г. К. Гогичадзе, Ф. Г. Долидзе, В. А. Пириашвили. Приобретенный иммунодефицит и злокачественная опухоль — заболевания единого этиопатогенеза 24  
გ. გოგიჩაძე, თ. დოლიძე, ვ. ფირიაშვილი. სხვადასხვა წარმოშობის იმუნოდეფიციტი და სიმსივნეები როგორც ერთიანი ეტიოპათოგენეზის მქონე დაავადებები
- G. Gogichadze, T. Dolidze, V. Phiriashvili. On the possible identity of the genesis of AIDS and oncological diseases
- З. Г. Мгалоблишвили. Морфологические изменения щитовидной железы крыс при гипокинезии 29  
ზ. მგალობლიშვილი. ვირთაგვების ფარისებრი ჯირკვლის მორფოლოგიური ცვლილებები ჰიპოკინეზიის დროს
- Z. Mgaloblishvili. Morphological changes of rat thyroid in hypokinesia
- Н. Г. Кохреидзе, В. И. Элисашвили, Г. И. Квеситадзе. Некоторые свойства частично очищенных препаратов целлюлазы и ксиланазы Piptoporus betulinus IBK-32 и Cerrena unicolor 062 33  
ნ. კოხრეიძე, ვ. ელისაშვილი, გ. კვესიტაძე. Piptoporus betulinus IBK-327-სა და Cerrena unicolor 062 ცელულაზისა და ქსილანაზის ნაწილობრივ გაწმენდილი პრეპარატების ზოგიერთი თვისებები
- N. Kokhreidze, V. Elisashvili, G. Kvesitadze. Some properties of partially purified cellulase and xylanase from Piptoporus betulinus IBK-327 and Cerrena unicolor
- С. О. Симонишвили, К. Ш. Куридзе, М. Ш. Симонидзе, Ф. О. Шрайбман, М. М. Заалишвили. Исследование актинсвязывающего домена α-актинина 37  
ს. სიმონიშვილი, კ. ქურიძე, მ. სიმონიძე, თ. შრაიბმანი, მ. ზაალიშვილი. α-აქტინინის აქტინთან დამაკავშირებელი დომენის გამოკვლევა.





S. Simonishvili, K. Kuridze, M. Simonidze, F. Shraibman, M. Zaalishvili. Investigation of the actin binding domain of the a-actinin

42

Т. Ш. Адеишвили, Е. А. Кошкин, Д. Д. Каландадзе, Г. С. Каличава, Н. Г. Кухалейшвили, Д. Г. Цуртумия. Последствие фузикокина на функционирование электронтранспортной цепи в листьях лимона

თ. ადეიშვილი, ე. კოშკინი, დ. კალანდაძე, გ. ყალიჩავა, ნ. კუხალეიშვილი, დ. წურწუმია. ფუზიკოკინის გავლენა ლიმონის ფოთლების ელექტრო-ტრანსპორტული ჯაჭვის ფუნქციონირებაზე.

T. A deishvili, E. Koshkin, D. Kalandadze, G. Kalichava, N. Kukhaleishvili, D. Tsurtsunia. The aftereffect of the fusicoccin on the functioning of electron transporting chain in lemon leaves

46

И. И. Георгадзе, И. И. Сесиашвили, Т. Г. Чанишвили, М. З. Минашвили. Бактериальные индукторы образования интерферона

ი. გიორგაძე, ი. სესიაშვილი, თ. ჭანიშვილი, მ. მინაშვილი. ბაქტერიალური ინდუქტორები ინტერფერონის წარმოსაქმნელად.

. Georgadze, I. esiashvili, T. Chanishvili, M. Minashvili. Bacterial inductors for interferon formation.

Ю. В. Харашвили, С. А. Резикийн. Распространенность инфекции ретровирусами С- и D-типов среди обезьян в питомниках НИИЭПит

ი. ხარაშვილი, ს. რეზიკიანი. C- და D-ტიპის რეტროვირუსული ინფექციის გავრცელება მაიმუნთა შორის ებოტსკის სანაშენებში.

U. Kharashvili, S. Rezikeyan. The spreading of imunodeficiency virus infection among the IEPT monkeys

60

И. И. Габриадзе, Н. З. Мжавия, Н. Л. Трапаидзе, Р. П. Вашакидзе. Клонирование и характеристика поли[(dG-dT) (dC-dA)] и поли[(dG-dA) (dC-dT)] последовательностей генома D. Melanogaster

ი. გაბრიადე, ნ. მჭავია, ნ. ტრაპაიძე, რ. ვაშაკიძე. D. Melanogaster-ის გენომის poly [(dG-dT) (dC-dA)] და poly [(dG-dA) (dC-dT)] თანმიმდევრობების კლონირება და დახასიათება

I. Gabriadze, M. Mzhavia, N. Trapaidze, R. Vashakidze. Cloning and characterization of poly [(dG-dT) (dC-dA)] and poly [(dG-dA) (dC-dT)] sequences from D. Melanogaster genome

66

UDC 612.821 + 612.826

HUMAN AND ANIMAL PHYSIOLOGY

## INVOLVEMENT OF CHOLINERGIC MECHANISMS IN THE RABBITS' EMOTIONAL BEHAVIOR

D. DAVITULIANI, A. KORELI

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

Accepted 21.12.91

Electrolytic lesion of the septum was shown to produce facilitation of the lateral hypothalamus self-stimulation and reversal of escape and avoidance behaviors elicited from medial hypothalamus to a high rate self-stimulation. Intraperitoneal administration of cholinolytics caused the same effect, while anticholinesterase drug strongly inhibited the lateral hypothalamus self-stimulation. These data are compared with the earlier findings concerning effects of the hippocampal lesions or benzodiazepine administration on negative and positive emotional responses. It is suggested that elimination of the hippocampal theta-rhythm either via GABAergic or cholinergic manipulations, correlates with general behavior disinhibition and facilitation of self-stimulation.

Lesions of the hippocampus have been shown to produce a reversal of the negative emotional responses elicited by the medial hypothalamus (MH) stimulation to the positive self-stimulation behavior [11]. Later the same effect was observed after administration of benzodiazepines and meprobamate [12, 13]. On the other hand benzodiazepines eliminate the hippocampal theta-rhythm [16, 18]. This effect may be due to the overactivity of the intrahippocampal GABAergic synapses [7, 18]. The similarity between the behavioral effects of benzodiazepines and hippocampal damage was shown by the other authors [5, 7]. These and other findings [9, 21] make it quite reasonable to suggest that the hippocampal type 2 theta may be a good correlate of the anxiety state in the lower mammals at least.

Although the hippocampal GABAergic system plays a major role in generation of

the theta-activity [19, 22], its pacemaker is localized in the medial septal nucleus and is of predominantly cholinergic origin [1, 2]. With regards of these assumption we aimed our further experiments towards elucidation of the possible cholinergic mechanisms involved in emotional behavior of the rabbits. The results of parallel observation on the hippocampal theta and emotional behavior in the rats were published recently [21] and it was proven that suppression of the type 2 theta accompanies anxiolytic effects of the antimuscarinic drug.

In order to investigate this issue more closely we studied behaviors elicited by the MH and lateral hypothalamus (LH) stimulation under conditions of electrolytic lesions of the septum as well as after the administration of different acetylcholine blocking and cholinomimetic drugs.

### METHODS

Forty adult Chinchilla rabbits of either sex weighing from 2.5 to 3.5 kg, obtained from the industrial breeding farm, were

housed individually in wire mesh cages in a room at a temperature  $20 \pm 1^\circ\text{C}$  and with lights on at 08<sup>00</sup> and off at 20<sup>00</sup>. Ex-

cept during the experimental procedures the animals had free access to food and water.

Implantation of the intracranial electrodes was performed under the light nembuthal anesthesia (25 — 30 mg/kg). After fixing in place the head of the animal in the stereotaxic apparatus the skin over the skull and other soft tissues squeezed by the apparatus were saturated with 2% novokain solution. Each animal was implanted with a set of bipolar stainless electrodes aimed into the LH and MH, bilaterally. Later on testing of these electrodes provided arrangement of the animals in the two distinct behavioral groups — positive group (PG) with stimulating electrodes in the right or left LH, eliciting definite self-stimulation, and negative group (NG) with electrode in the MH, producing obvious escape responses. In each of different series of experiments paired groups of animals were used consisting of five NG animals and five of PG. Animals which were used in septal experiments ( $n=5+5$ ) additionally were implanted with electrodes in medial septum. Stereotaxic coordinates were adopted from atlas [3].

Large Skinner box with dimensions of 150 x 80 cm served as a general apparatus. The box was furnished with the lever requiring 100 g force to switch on the stimulation. One stimulus consisted of 0.5 s train of 150 Hz sine wave current. Both voltage and current were monitored throughout the experiments. Effective current in our experiments was  $100 \pm 200 \mu A$ . Circuitry was arranged on a continuous reinforcement schedule and animal had to release the lever and press it again to trigger the stimulus. The number of lever-presses was recorded on the digital counter.

Animals of PG were routinely trained to press the lever and before the intervention of any kind were pretested for three

### RESULTS

After the animals of the both NG and PG subgroups were pretested and the baseline of hypothalamic stimulation frequency

subsequent days, one 10-minute session per day and the mean frequency of self-stimulation was evaluated. Calculated figure served as a baseline (before) for a given animal. Animals of NG were stimulated manually once a minute and/or if the animal started exploratory movements during the interstimulus interval. In the latter case the one-minute count-down was started anew. Animals of NG when stimulated exhibited stable aversive behavior with immediate escape from the place where intracranial stimulation was delivered. The escape was always directed to the farthest opposite corner of the box where animals kept quiet until the next stimulus was applied. The least number of stimuli within a standard 10-minute session in the NG was 11, but actually it was somewhat above this figure. The NG animals were pretested for three days in the same manner as the PG animals.

After estimation of the baseline rate of hypothalamic stimulation animals were either given a septal lesion or injected with a certain drug. Septal animals were tested on the next day after the electrocoagulation and several days successively. Drug-treated animals were tested 30—50 minutes after the injection and then on the second and third days successively. After the complete wash-out these animals were given same volume of 0.9% NaCl solution and tested again. Thus the animals served as vehicle self-controls.

After the completion of experiments animals were given a lethal dose of nembuthal, brains were perfused with 10% formalin solution and then removed for the further histological verification.

Validity of obtained results in each series was tested using Fischer's tables (if  $n=5$ ,  $Q=0$ , then  $P<0.05$ ). The mean figures in each subgroup ( $n=5$ ) were compared by grouped data t-test.

was calculated, lesion of the septum was produced by a d.c. of 1 — 2mA during 30 — 40 s. No overt changes in the appe-



arance or behavior as a result of the operation were observed. On the next day the animals were tested as before the septal ablation. The number of lever-presses in these animals was reliably higher than before the septal ablation ( $P < 0.01$ ). Increased rate of self-stimulation was preserved unchanged in three animals during seven days of observation. Two animals resumed their baseline rate on the third and fourth days after the septal ablation. The histology has shown that irreversible facilitation of self-stimulation was found in animals with large lesions involving both medial and lateral parts of the septum, while animals with transient effects had lesions restricted to the medial septum only.

In the NG animals septal ablation resulted in a less vigorous escape after the MH stimulation, and the orienting aspects of behavior were more expressed. They moved more and froze less. Exploratory movements and sniffing of the floor were easily associated with the place and after 5—6 stimulations of the MH animals started approaching the lever and eventually self-stimulated. Recording of the lever-approaches has shown reliable reversal of the aversive responses to the self-stimulation ( $P < 0.01$ ). The MH self-stimulation mean frequency was lower than the baseline rate of intact PG animals. Effects of the septal lesions in the PG and NG are shown in fig. 1.

The emotional reversal was persistent in four animals of NG and in one animal it disappeared in four days, e. g. the run-and-freeze behavior was reinstated. This result is also directly correlated with the volume of the septal ablation.

The atropine sulphate (0.1% solution) and benactyzine (0.5% solution) were used as a central muscarinic cholinolytics in both the PG and NG animals. The drugs were given intraperitoneally 20—50 minutes prior to the behavioral experiments. Benactyzine at a dose of 10 mg/kg produced an effect closely resembling that of other

tranquilizers (e. g. diazepam, oxazepam). In the PG the mean frequency of self-stimulation increased reliably though the difference between the control and drugged rates was less expressed ( $P < 0.05$ ). Behavior of the NG animals after benactyzine

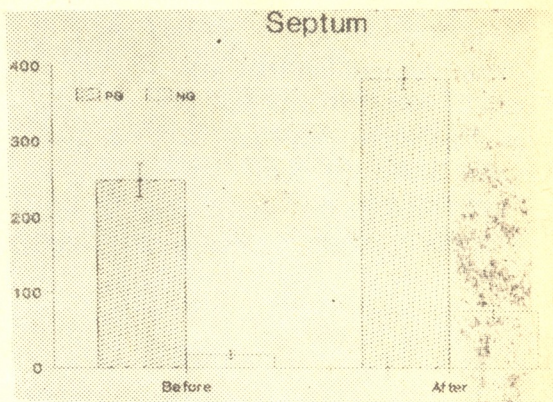


Fig. 1. Frequency (Mean  $\pm$  s. e. m.) of hypothalamic stimulation per 10-minute session in PG (n=5) and NG (n=5) subgroups before and after the septal lesion ( $P < 0.01$ )

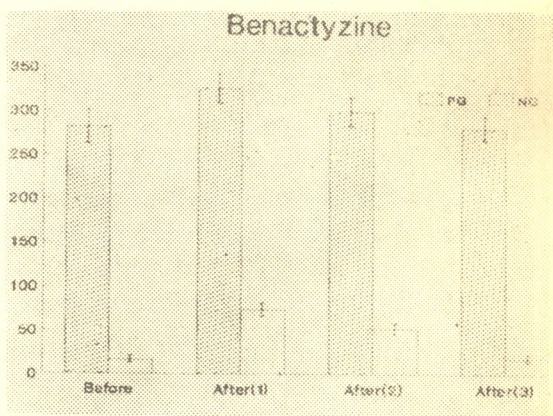


Fig. 2. Effects of intraperitoneal injection of benactyzine on hypothalamic stimulation frequency (mean  $\pm$  s. e. m.) in the PG and NG animals (n=5, in each subgroup). The figures in the brackets indicate a postinjection effect 30 minutes (1) after injection, on the second (2), and third (3) days, respectively ( $P < 0.05$ )

injection also was disinhibited, animals moved more and froze less. Stimulation of the MH elicited regular escape, but just

after the offset of stimulus they started sniffing and searching. Since the orienting responses were always reinforced with additional stimuli the mean number of applied stimuli per 10-minute session increased significantly ( $P < 0.05$ ). These results are shown in fig. 2.

The influences of atropine at a dose of 10 mg/kg in the PG and NG animals were well expressed and did not differ from those produced by tranquilizers. The rate of self-stimulation in the PG was twice as high in comparison with the control value, albeit the action of the drug was shorter and on the second day its effect was totally absent. Atropine disinhibited

day. Influences of atropine on the PG and NG animals' behavior are shown in fig. 3

Galanthamine is an alkaloid with pharmacological properties closely resembling those of physostigmine (eserine). Blocking the cholinesterase activity galanthamine enhances cholinergic efficacy and thus may be viewed here as an antagonist of cholinolytics used in the previous series o

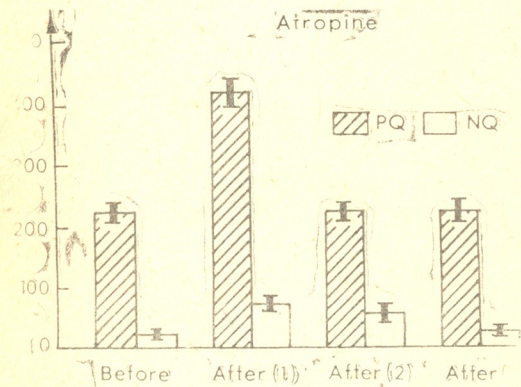


Fig. 3. Effects of intraperitoneal injection of atropine on hypothalamic stimulation rate in the PG and NG animals ( $P < 0.01$ ). The other notations as in fig. 2

behavior of the NG animals as well and the mean number of applied stimuli increased significantly ( $P < 0.01$ ). Recovery of the baseline rate of stimulation per 10-minute session occurred on the third

#### DISCUSSION

The results of the present investigation support and extend the earlier observations that the septo-hippocampal system plays a major role in behavioral inhibition [4, 6, 7, 10]. Specifically the present data show that the septo-hippocampal cholinergic mechanisms strongly modulate hypothala-

micallly induced emotional behaviors. It has been reported earlier that antimuscarinic drugs tend to disinhibit behavior, whereas cholinomimetics cause response suppression suggesting that a cholinergic system is involved in the behavioral inhibition [1, 21].

Galanthamine (PG)

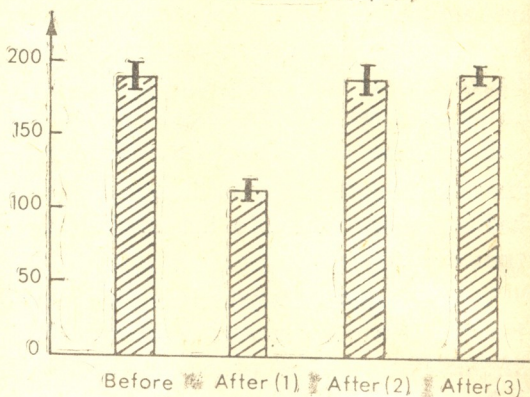
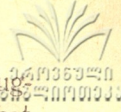


Fig. 4. Effect of intraperitoneal injection of galanthamine on the LH self-stimulation in the PG animals ( $n=5$ ,  $P < 0.05$ ). The notations as in fig. 2 and fig. 3



The Double Emotional Test (DET) designed and utilized in our laboratory, and which implies paired groups of animals with implanted electrodes in the LH vs. MH, has shown earlier that anxiolytic drugs increase self-stimulation of the LH and reverse escape responses elicited from the MH, while neuroleptics decrease self-stimulation rate in PG animals and disinhibit general behavior of NG animals [13]. This finding allows us to propose the DET as an alternative anxiety test applicable for screening new tranquilizers and neuroleptics. This proposal is supported by present data concerning effects of uncommon tranquilizer and atropine, both being cholinolytics.

The enigma of the hippocampal regular slow activity seems to hold on [7, 15], though intrahippocampal cellular mechanisms are not entirely obscure [7, 8, 25]. The most intriguing problem of the theta is its behavioral correlates and if one carefully examines the vast number of collected data it becomes obvious that theta accompanies the majority of emotional states in animals. It seems probable that theta may be viewed as an electrographic

index of anxiety in particular. This suggestion is well supported by the fact that most pharmacological agents which block the hippocampal regular slow activity (e. g. benzodiazepines, barbiturates, alcohol etc.) have anxiolytic properties as well, while the agents which induce strong theta (pentylentetrazole, eserine) trigger panic attacks in humans [14] and inhibit hedonic behaviors in animals [7].

Concerning the somewhat puzzling results of the septal ablation they could be explained by the existence of the two theta generators within the hippocampus [8, 25]. Results of differential lesions produced in the lateral and/or medial septal regions of the rat led investigators [20] to the suggestion that the pathways mediating the theta inputs to the CA-1 and dentate generators are at one point anatomically distinct.

All these speculations do not necessarily lead to the conclusion that the septo-hippocampal system is a sole and specific anxiogenic structure, but the generation of anxiety is not the least important role played by this system.

REFERENCES

1. Apostol G., Creutzfeldt O. D. *Brain Res.*, 67, 1, 65—75, 1974.
2. Bland B. H., Seto M. G., Sinclair B. R., Fraser S. M. *Brain Res.*, 299, 1, 121—131, 1984.
3. Bureš J., Petran M., Zachar J. *Electrophysiological methods in biological research*, Prague, Publ. House of Czechoslovak Academy of Sciences, 1960.
4. Douglas R. J. *Psychol. Bull.*, 67, 3, 416—442, 1967.
5. File S. E. In: *Pharmacology of benzodiazepines*. Weinheim, Verlag Chemie. Gmb H, 1983.
6. Graeff F. G. *Brazil. J. Med. Biol Res.*, 14, 2, 239—265, 1981.
7. Gray J. A. *The neuropsychology of anxiety: an enquiry into the functions of the septo-hippocampal system*, New York, Oxford University Press, 1982.
8. Green K. F., Rawlins J. N. P. *Electroenceph. clin. Neurophysiol.*, 47, 3, 420—429, 1979.
9. Jouvet M., Michel F., Courjon J. *Comp. rend. soc. biol.*, 153, 1, 101—105, 1959.
10. Kimble D. P. *Neuropsychologia*, 7, 2, 235—244, 1969.
11. Koreli A. *Physiol. Behav.*, 19, 4, 713—717, 1977.
12. Koreli A. Davituliani D. *Physiol. Behav.*, 33, 3, 339—341, 1984.
13. Koreli A. G., Davituliani D. *Sh. Acta Physiol. Hung.*, 72, 3, 307—313, 1988.
14. Lal H., Emmet-Oglesby M. W. *Neuropharmacology*, 22, 6, 1423—1441, 1983.
15. O'Keefe J., Nadel L. *The hippocampus as a cognitive map*, Oxford, Clarendon Press, 1978.
16. Ongini E. In: *Benzodiazepine recognition site ligands: Biochemistry and Pharmacology*, New York, Raven Press, 1983.
17. Petsche H., Stumpf C., Gogolak G. *Electroenceph. clin. Neurophysiol.*, 14, 2, 202—211, 1962.



18. Polc P., Laurent J. P., Scherschlicht R., Haefely W. Naunyn-Schmiedeberg's Arch. Pharmacol., 316, 2, 317—328, 1981.

19. Roberts E. In: GABA—neurotransmitters, Copenhagen, Munksgaard, 1972.

20. Sainsbury R. S., Bland B. H. Physiol. Behav., 26, 6, 1097—1101, 1981.

21. Sainsbury R. S., Heynen A., Montoya C. P. Physiol. Behav., 3, 513—519, 1987.

22. Tsuchiya T., Fukushima H. Eur. J. Pharmacol., 48, 3, 421—424, 1978.

23. Vanderwolf C. H. J. comp. physiol. Psychol., 83, 3, 300—333, 1975.

24. Wauquier A. Int. Rev. Neurobiol., 21, 2, 335—404, 1979.

25. Winson J. In: The septal nuclei, New York, Plenum Press, 1976.

კლინიკური მკვლევების მონაწილეობა გოცვრის  
ემოციურ ძვევაში

დ. ღავითულიანი, ა. კორელი

საქართველოს მეცნიერებათა აკადემიის ი. ბერიტაშვილის სახელობის  
ფიზიოლოგიის ინსტიტუტი, თბილისი

რეზიუმე

გამკვირვალე ძვიდის ელექტროლიზური დაზიანება იწვევს ლატერალური ჰიპოთალამუსის თვითგალიზიანების გაადვილებას და მედიალური ჰიპოთალამუსის გალიზიანებით გამოწვეული გაქცევის რეაქციის გადაკეთებას მალალსიხშიროვან თვითგალიზიანებად. ქოლინოლიტიკების ინტრაპერიტონეალური შეყვანა ასეთივე ეფექტებს იწვევს, ხოლო ანტიქოლინესტერაზული ნივთიერება საგრძნობლად

აკავებს ლატერალური ჰიპოთალამუსის თვითგალიზიანებას. ეს მონაცემები შედარებულია ჰიპოკამპის დაზიანებისა და ბენზოდიაზეპინების შეყვანის ადრე მიღებულ შედეგებთან. გამოთქმულია მოსაზრება, რომ ჰიპოკამპის ტეტა-რიტმის მოსპობა, გამა-ამინოერბომაყვური ან ქოლინერგული სისტემების დარღვევით, კორელირებს ზოგადი აქტიურობისა და თვითგალიზიანების გაადვილებასთან.

**УЧАСТИЕ ХОЛИНЕРГИЧЕСКИХ МЕХАНИЗМОВ  
В ЭМОЦИОНАЛЬНОМ ПОВЕДЕНИИ КРОЛИКОВ**

Д. Ш. Давитулиани, А. Г. Корели

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

Резюме

Электrolитическое повреждение прозрачной перегородки приводит к облегчению самораздражения латерального гипоталамуса и переделке реакций избегания, вызываемых стимуляцией медиального гипоталамуса, в высокочастотное самораздражение. Интраперитонеальное введение холинотиков приводит к аналогичному результату, а антихолинэстеразное вещество существенно подавляет са-

мораздражение латерального гипоталамуса. Эти данные сравниваются с ранее полученными результатами повреждения гиппокампа и введения бензодиазепинов. Высказано предположение, что подавление гиппокампального тета-ритма, подавлением ГАМК-ергических или холинергических механизмов, коррелирует с расторможением общей активности и самораздражения.

УДК 612.821.6

ПАТОЛОГИЧЕСКАЯ ФИЗИОЛОГИЯ

## ЗНАЧЕНИЕ БЛОКИРОВАНИЯ СИНТЕЗА ПРОСТАГЛАНДИНОВ ДЛЯ ИЗУЧЕНИЯ МЕХАНИЗМОВ ИШЕМИИ МИОКАРДА У БОЛЬНЫХ ИШЕМИЧЕСКОЙ БОЛЕЗНЬЮ СЕРДЦА

М. А. Мургулия, И. В. Мдивани, Г. Т. Мамаладзе, Г. Г. Матешвили

*Институт клинической и экспериментальной кардиологии им. акад.  
М. Д. Цинамдзгвришвили МЗ Республики Грузия, Тбилиси*

Поступила в редакцию 15.04.91

Для установления активности аднерорецепторов мышечного слоя коронарных артерий впервые было использовано известное свойство больших доз аспирина блокировать синтез вазодилирующих простагландинов. В качестве аднергического стимулятора, для провоцирования спазма коронарных артерий у больных ИБС, применяли холодовую пробу до и после нагрузки аспирином. Среди больных ИБС выделены 4 группы с различной функциональной активностью  $\alpha_1$ ,  $\alpha_2$ ,  $\beta$ -рецепторов мышечного слоя коронарных артерий. Указанное исследование, в комплексе с физическим стресс-тестом и дипиридамовой пробой, позволяет судить о различных механизмах ишемии миокарда в каждом отдельном случае.

Холодовая проба (ХП) была предложена для определения вазомоторной реакции организма. Сравнительно недавно ХП стали применять в диагностике ИБС.

В настоящее время нет единого мнения о механизмах возникновения ишемии миокарда при ХП. По данным одних авторов ХП вызывает повышение потребности миокарда в кислороде и повышение резистентности коронарных артерий (КА) [8]. Есть данные, что ХП повышает коронарное сопротивление лишь в ненормально кровоснабжаемых областях и не вызывает коронарспазм [10]. В последнее время установлено, что ХП может провоцировать ишемию миокарда не только при вазоспастической ангине, но и при других формах ИБС [17].

ХП обладает весьма высокой специфичностью (92—100%). Чувствительность ХП варьирует в зависимости от методов оценки состояния коронарно-

го кровообращения. Так, при применении радионуклидной вентрикулографии она составляет 55—70%, эхокардиографии — 75%, скинтиграфии — 77% [13, 9, 6]. По ЭКГ критериям чувствительность ХП составляет 38% [14]. Поэтому, несмотря на высокую специфичность, эта проба не нашла должного применения в клинике из-за низкой чувствительности по ЭКГ критериям, которые являются наиболее доступными для широкой сети здравоохранения.

Для повышения чувствительности ХП нами впервые было использовано хорошо известное свойство больших доз аспирина блокировать синтез вазодилирующих простагландинов, нивелирующих вазоконстрикторный эффект симпатической стимуляции. Такой подход позволил значительно повысить чувствительность этой пробы [2].

### МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

В исследование включено 86 больных ИБС мужского пола, в возрасте от 34 до 68 лет (средний возраст 53,2 года), без признаков ишемии мио-

карда на ЭКГ покоя. Диагноз ИБС ставился на основании комплексного обследования больных, включавшего сбор анамнеза, общеклинические об-

следования, регистрацию ЭКГ при проведении физического стресс-теста (ФСТ) на тредмиле дипиридамоловой пробы (ДП), ХП и аспириновую нагрузку. ФСТ, ДП и ХП проводили по общепринятой методике [1]. У пациентов с отрицательными результатами ФСТ и ХП проводили аспириновую нагрузку с повторным проведением этих проб. Аспириновую нагрузку проводили следующим образом: обследуемым давали внутрь аспирин в дозе 0,05 г/кг веса в сутки в два приема, в течение 2-х дней. На третий день проводили ФСТ и ХП.

Обследовано 45 больных стабильной стенокардией напряжения и 41 — с атипичными болями в области сердца. В зависимости от тяжести стабильной стенокардии напряжения 21 больной отнесены к I, 15 — ко II, 9 — к III функциональному классам.

## РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

Из числа больных ИБС при проведении ФСТ выявлены критерии ишемии миокарда у 69 обследованных. Среди них снижение сегмента ST отмечалось у 48, подъем сегмента ST — у 11, изменение зубца Т — у 41 пациентов. Проведение ФСТ на фоне аспириновой нагрузки выявило ЭКГ критерии ишемии миокарда у 17 больных. Из них элевация сегмента ST отмечалась у 8, депрессия — у 3-х, изменение зубца Т — у 12 больных. Из всех обследованных положительные результаты ФСТ сопровождалась ангинозной болью у 39 пациентов.

При проведении ХП положительные критерии ишемии миокарда выявились у 29 пациентов. Из них депрессия сегмента ST отмечалась у 12, элевация — у 18, изменение зубца Т — у 24, частая желудочковая экстрасистолия — у 7 пациентов. ХП на фоне аспириновой нагрузки выявила положительные критерии ишемии миокарда у 39 обследуемых. Из них депрессия сегмента ST отмечалась у 14, элевация сегмента ST — у 17, изменение зубца Т — у 22, частая желудочковая экстрасистолия — у 5 пациентов. Ишемические изменения на ЭКГ при ХП сопровождалась ангинозной болью в 12 случаях.

По полученным результатам были выделены 4 группы (табл. 1). В первой группе отмечались отрицательные данные ФСТ, ДП, ХП. Проведение

Инфаркт миокарда в прошлом несли 9 больных. Артериальная гипертония в анамнезе отмечена у 23 больных.

Контрольную группу составили 20 здоровых.

Признаками ишемии на ЭКГ считались снижение или подъем сегмента ST от изоэлектрической линии более 1 мм, псевдонормализация или инверсия зубца Т, появление множественных желудочковых экстрасистол, которые исчезали после приема нитроглицерина, или их сочетание. Анализ ЭКГ данных производился с помощью компьютерной ЭКГ системы «КЕИС» фирмы Маркет электроникс. До обследования больным не назначались бета-блокаторы. Коронарорасширяющие медикаменты отменялись за сутки до проведения исследования.

ФСТ и ХП на фоне аспириновой нагрузки выявило положительные критерии ишемии миокарда. Во второй группе имелись положительные результаты ФСТ, ДП и отрицательные данные ХП. Проведение ХП на фоне аспириновой нагрузки выявило признаки ишемии миокарда. В третью группу вошли пациенты с положительными результатами ФСТ, ДП и ХП, поэтому аспириновая нагрузка в этой группе не проводилась. В четвертую группу вошли пациенты с положительными результатами ФСТ, ДП и с отрицательными или минимальными ЭКГ критериями ишемии миокарда при ХП. Аспириновая нагрузка не влияла на результаты ХП.

В последнее время было показано, что ангиографически неизменные КА при ХП расширяются, в отличие от патологически измененных сосудов, которые суживаются независимо от выраженности патологического процесса [15]. Известно также, что интегральная реакция на симпатическую стимуляцию при ХП зависит по крайней мере от четырех типов рецепторов:  $\alpha_1$ ,  $\alpha_2$ ,  $\beta$ -адренорецепторов гладкой мускулатуры КА и  $\alpha_2$ -адренорецепторов эндотелиальных клеток [11, 18]. Повышение перфузионного давления в системе КА, под влиянием симпатической стимуляции, может независимо вызывать дилатацию интакт-

Больные ИБС	До приема аспирина		После приема аспирина	
	в покое	при ХП	в покое	при ХП
I группа, № 17				
ЧСС	74,3(11,7)	89,1(15,6)	76,2( 9,3)	87,3(16,2)
ДАД	77,5(12,1)	98,7(10,8)	79,4(12,1)	98,1(13,4)
САД	122,7(15,9)	164,5(28,9)	121,9(14,7)	159,8(34,2)
II группа, № 22				
ЧСС	71,6( 9,3)	86,4(16,1)	69,5(10,8)	90,1(15,7)
ДАД	80,0(12,5)	99,1(12,4)	81,8( 8,9)	100,6(16,3)
САД	128,4(16,6)	169,2(29,7)	134,7(18,1)	184,3(36,4)
III группа, № 29				
ЧСС	74,0(14,5)	88,6(11,8)	—	—
ДАД	83,6( 8,9)	102,8(14,3)	—	—
САД	129,4(12,1)	184,7(27,8)	—	—
IV группа, № 18				
ЧСС	70,4(8 ,7)	85,6(15,9)	71,4( 9,6)	89,8(17,3)
ДАД	88,5(10,7)	100,2(16,8)	85,7( 9,7)	103,4(11,6)
САД	137,5(11,5)	189,1(34,5)	136,1(14,1)	185,7(29,6)
Контрольная группа, № 20				
ЧСС	68,6(7,8)	76,9(10,7)	70,8(8,4)	74,1(11,5)
ДАД	76,5(8,8)	84,3( 8,6)	80,7(7,9)	86,1( 8,2)
САД	116,2(9,1)	156,5(15,2)	121,2(8,9)	154,5(17,2)

Обозначение: ХП - холодовая проба; ЧСС - число сердечных сокращений в минуту; ДАД - диастолическое артериальное давление; САД - систолическое артериальное давление

ных КА, из-за воздействия на  $\alpha_2$ -рецепторы эндотелиальных клеток и выделения зависящего от эндотелия фактора релаксации (ЗЭФР) [5, 7].

Установлено, что коронарная вазодилатация в ответ на стимуляцию холодом зависит от функциональной сохранности эндотелия КА [4]. Показано также, что при незначительно выраженном стенозировании КА может отмечаться диффузное атеросклеротическое поражение эндотелия [19]. Атеросклеротическое повреждение интимы КА нарушает выделение ЗЭФР, тем самым препятствуя вазодилатации [20].

Активация  $\beta$ -адренорецепторов гладкой мускулатуры КА при симпатической стимуляции вызывает высвобождение простаглицлина и простогландина ПГЕ<sub>1а</sub>. В свою очередь, эти вещества вызывают ослабление эффекта симпатической стимуляции за счет торможения выхода медиатора из симпатических нервных окончаний. Вме-

сте с тем простаглицлин и ПГЕ<sub>1а</sub> обладают прямым вазодилаторным действием [3, 16]. Поэтому при отсутствии атеросклеротического поражения интимы КА и функциональной сохранности  $\beta$ -адренорецепторов мышечного слоя в целом эффект симпатической стимуляции выражается в коронародилатации. Если у больных с коронарным атеросклерозом блокировать синтез простаглицлинов приемом высоких доз аспирина или индометацина, при условии, что выделение ЗЭФР не происходит из-за поражения  $\alpha_2$ -рецепторов эндотелиальных клеток, а  $\alpha_1$ ,  $\alpha_2$ -адренорецепторы мышечного слоя функционально сохранены, то, вероятно, что суммарный эффект симпатической стимуляции при ХП будет выражаться вазоконстрикцией.

С другой стороны, тонус гладкой мускулатуры мелких интрамиокардиальных сосудов регулируется как нейрогуморальными, метаболическими, так и экстравазальными компресси-

онным факторами. ХП, стимулируя адренергическую систему, оказывает как нейрогуморальное воздействие на коронарное кровообращение, так и, путем увеличения преднагрузки и повышения энддиастолического давления, вторично вызывает повышение васкулярной резистентности, вследствие повышенного трансмурального давления [12].

Как было показано, в I группе отмечались отрицательные результаты всех 3-х проб, а под влиянием нагрузки аспирином ФСТ и ХП становились положительными. Следовательно, в этой группе ишемия миокарда не возникает ни по механизму «обкрадывания», ни по механизму повышения потребности миокарда в кислороде. Надо полагать, что у пациентов этой группы имеется поражение  $\alpha_2$ -адренорецепторов эндотелиальных клеток с нарушением выделения ЗЭФР. Блокирование синтеза простагландинов большими дозами аспирина создает условия для проявления симпатической вазоконстрикции. Это в свою очередь указывает на функциональную сохранность как  $\beta$ -, так и  $\alpha_1$ ,  $\alpha_2$ -адренорецепторов мышечного слоя КА.

Во II группе имелись положительные данные ФСТ и ДП. Отрицательная ХП под влиянием нагрузки аспирином становилась положительной. Следовательно, у таких больных оперируют два механизма ишемии, при этом коронарспазм проводился блокированием синтеза простагландинов с помощью больших доз аспирина. Судя по результатам ФСТ и ДП, у этих больных, наряду с нарушением выделения ЗЭФР, имеется стенозирующее поражение КА, а  $\alpha_1$ ,  $\alpha_2$ ,  $\beta$ -адренорецепторы мышечного слоя функционально сохранены.

В III группе положительны все три пробы. У этих пациентов, по-видимому, также отмечается стенозирующий атеросклероз КА, нарушение выделения ЗЭФР из-за повреждения  $\alpha_2$ -рецепторов эндотелиальных клеток КА, поражение  $\beta$ -рецепторов мышечного слоя, но сохранены  $\alpha_1$ ,  $\alpha_2$ -рецепторы гладкой мускулатуры КА. Следовательно, у пациентов этой группы также оперируют два механизма ишемии, но коронарспазм наступает уже под влиянием проведения ХП без нагрузки аспирином.

В IV группе отмечались положительные данные ФСТ и ДП, а также

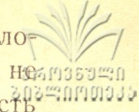
отрицательные или минимальные ЭКГ-критерии ишемии миокарда при проведении ХП. Применение нагрузки аспирином не влияло на результаты ХП. Надо думать, что у этих больных имеется тотальное поражение рецепторов как мышечного слоя КА, так и эндотелия. В связи с этим не наступает ответная реакция КА на симпатическую стимуляцию, а слабоположительная ХП в некоторых случаях, по-видимому, указывает на наличие экстраваскулярного компрессионного фактора, как основного механизма ишемии миокарда у этих больных при ХП.

Надо отметить, что общая реакция сердечно-сосудистой системы на ХП во многом зависит от исходного состояния вегетативной нервной системы и ее реактивности. При значительном сужении просвета коронарных артерий и адекватном общем симпатическом ответе (тахикардия, повышение артериального давления) ХП может быть положительной из-за несоответствия между потребностью миокарда в кислороде и удовлетворением этой потребности.

Таким образом, предложенный подход с использованием комплекса функциональных проб дает возможность судить о механизмах ишемии миокарда в каждом конкретном случае.

Сосудорасширяющий эффект симпатической стимуляции осуществляется путем воздействия на рецепторы как гладкой мускулатуры КА, так и их эндотелия. Активация этих адренорецепторов в первом случае вызывает усиление продукции вазодилиатирующих простагландинов, а во втором — зависит от эндотелия фактора релаксации. При дисфункции эндотелия, вследствие поражения КА атеросклерозом, недостаточное выделение ЗЭФР приводит к суживанию артерий, но нередко этот эффект оказывается ослабленным из-за функциональной сохранности  $\beta$ -адренорецепторов гладкой мускулатуры КА. Этим объясняется невысокая чувствительность ХП при ИБС. При поражении  $\beta$ -рецепторов мышечного слоя или при блокировании синтеза простагландинов путем ингибиции циклооксигеназы у больных ИБС с пораженными  $\alpha_2$ -адренорецепторами эндотелия и функционально сохраненными  $\alpha_1$ ,  $\alpha_2$ -адренорецепторами мышечного слоя КА, создаются благоприятные условия для проявления симпатической вазоконстрикции.





При отсутствии атеросклеротических изменений эндотелия, даже под влиянием больших доз аспирина, вазоконстрикторный эффект симпатической стимуляции не наблюдается, из-за функциональной сохранности эндоте-

лиальных клеток, тем более что блокирование синтеза простагландинов влияет на функциональную активность  $\alpha_2$ -рецепторов эндотелия и выделения ЗЭФР [11].

ЛИТЕРАТУРА

1. Гасилин В. С., Сидоренко Б. А. Стенокардия, М., «Медицина», 1987, 81—115.
2. Мургулия М. А., Мдивани И. В. Конференция Совета молодых ученых и специалистов Первомайского РК ЛКСМ г. Тбилиси, Материалы докладов, 1987.
3. Меерсон Ф. З. Патогенез и предупреждение стрессорных ишемических повреждений сердца, М., «Медицина», 1984, 187—198.
4. Angus J., Cocks T. Medical J. Australia, 146, 250—253, 1987.
5. Angus J., Cocks T., Satok K. Fed Proc., 43, 2355—2359, 1986.
6. Ahmad M., Dubiel J., Haiback H. Am. J. Cardiol., 50, 1253—1257, 1982.
7. Chesebro J., Fuster V., Webster M. J. Am. Coll. Cardiol., 14, 1191—1192, 1989.
8. Feldman R., Whittle J., Marx J., Peplne C., Conti R. Am. J. Cardiol., 49, 665—673, 1982.
9. Fujita T., Ajisaka R., Yuki-sada K., Sugishita Y., Ito I. Japn. Heart J., 27, 813—824, 1986.
10. Ciodi B., Nanda N., Rochester N. Am. Heart J., 107, 278—285, 1984.
11. Holtz J., Forstermann U., Pohl U., Gisler M., Bassange E. J. Cardiovasc. Pharmacol., 6, 1161—1169, 1984.
12. Malacoff R., Mudge G., Holman B., Idojne J., Bifolck L., Cohn P. Am. Heart J., 106, 78—84, 1983.
13. Manyari D., Nolewaika A., Purves P., Donner A., Kostuk, W., Circulation, 65, 571—579, 1982.
14. Mohan J., Wasirt U. JAPI, 33, 573—575, 1985.
15. Nabel E., Ganz P., Gordon J., Alexander R., Selwyn A., Circulation, 77, 43—52, 1988.
16. Serneri G., Gensini G., Abbate R., Prisco D., Rogasi P., Castellani S., Casolo G., Matucci M., Fantini F., Di Donato M., Dabizzi R. Am. Heart J., 110, 50—55, 1985.
17. Shea M., Dianfield J. de Landsheere C., Wilson R., Ken-sett M., Selwyn A. Am. Heart J., 114, 469—476, 1987.
18. Shepherd J., Vanhoutte P. Mayoclin. Proc., 60, 33—46, 1985.
19. Werns S., Walton J., Usia U., Nabel E., Sanz M., Pitt B., Circulation, 79, 287—291, 1989.
20. Jeiher A., Drexler U., Wollschlaeger U., Saurbier B., Gust U. J. Am. Coll. Cardiol., 14, 1181—1190, 1989.

პროსტაგლანდინების სინთეზის ბლოკირების მნიშვნელობა მიოკარდიუმის იზემიის მექანიზმების შესწავლისათვის გულის იზემიური დაზარალებით შეპყრობილ აღამიანებში

ა. მურგულია, ი. მდივანი, ზ. მამალაძე, ზ. მათეოვილი

საქართველოს ჯანდაცვის სამინისტროს აკად. მ. წინამძღვრიშვილის სახელობის კლინიკური და ექსპერიმენტული კარდიოლოგიის სამეცნიერო-კვლევითი ინსტიტუტი, თბილისი

რეზიუმე

გვირგვინოვანი არტერიების კუნთოვანი შრის ადრენორეცეპტორების ფუნქციური მდგომარეობის შესწავლის მიზნით ზღებოდა პროსტოგლანდინების სინთეზის ბლოკირება ასპირინის დიდი დოზების გა-

მოყენებით. ადრენერგიული სტიმულაცია და კორონაროსპაზმის პროვოცირება იშემიური დაავადებით შეპყრობილ ავადმყოფებში სწარმოებდა სიცვიის ცდის მეშვეობით.

გვირგვინოვანი არტერიების კუნთოვანი შრის  $\alpha_1$ ,  $\alpha_2$ ,  $\beta$ -რეცეპტორების აქტიურობის მიხედვით გამოკვლეული ავადმყოფები დაიყო 4 ჯგუფად. აღნიშნული გამოკვლევა, ფიზიკური დატვირთვის

ცდასთან და დიპირიდამოლის სინჯოვანობით, იძლევა მიოკარდიუმის იშემიის დასახვა მექანიზმებზე მსჯელობის საშუალებას თვითეულ კონკრეტულ შემთხვევაში.

## THE IMPORTANCE OF PROSTAGLANDINS SYNTHESIS BLOCKING IN PATIENTS WITH ISCHEMIC HEART DISEASE FOR THE STUDY OF MYOCARDIAL ISCHEMIA

M. MURGULIA, I. MDIVANI, G. MAMALADZE, G. MATESHVILI

Tsinamdzgvrishvili Institute of Cardiology, Department of Public Health, Tbilisi

### Summary

The blocking of prostaglandins synthesis by large doses of acetylsalicylic acid was used to evaluate functional state of adrenoreceptors of muscular layer of coronary arteries. Adrenergic stimulation was produced by cold stress-test which was performed before and after acetylsalicylic acid administration to pa-

tients with ischemic heart disease. Four types of functional activities of  $\alpha_1$ ,  $\alpha_2$ ,  $\beta$  receptors were noted in ischemic patients which together with the results of physical stress-test and dipyridamol assay allowed to differentiate the mechanism of ischemia.

УДК 612.821.6+612.821.2

ГИСТОЛОГИЯ

## ВЛИЯНИЕ ГИПОКИНЕЗИИ НА УЛЬТРАСТРУКТУРУ ГЛИАЛЬНЫХ ЭЛЕМЕНТОВ НЕКОТОРЫХ ОБРАЗОВАНИЙ ПЕРЕДНЕГО МОЗГА КРЫСЫ

М. Г. Жвания, И. М. Какабадзе

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

Поступила в редакцию 14.05.91

20.330

У крыс, находящихся 40, 90 и 120 дней в условиях гипокинезии, ультраструктуру глиальных элементов изучали: в центральном и латеральном ядрах миндалины, полях СА1 и СА3 гиппокампа, цингулярной извилине, сенсомоторной коре. Обнаружен ряд изменений, учащающихся с экспериментальным сроком. В цингулярной коре и ядрах миндалины изменения претерпевают в основном астроциты, в гиппокампе — сравнительно в равной степени — астроциты и олигодендроциты, в сенсомоторной коре — преимущественно олигодендроциты.

Исследование влияния гипокинезии на структурно-функциональную организацию большого мозга представляет собой важную проблему современной неврологии. Частным вопросом данной проблемы является изучение существенного ограничения двигательной активности, подразумевающей также и развитие — особенно на первых порах — стрессорной реакции [1, 7, 9]. Такое воздействие вызывает ряд нарушений в протекании процессов высшей нервной деятельности, имеет свое отражение на электрофизиологическом, биохимическом и морфологическом уровнях, как в двигательных, так и в функционально различных «недвигательных» образованиях большого мозга. Одно из многочисленных подтверждений это-

го — опубликованная нами ранее работа, в которой описаны реактивные и деструктивные изменения, происходящие под влиянием 40-, 90- и 120-дневной гипокинезии в нейронах и межнейронных связях ряда подкорковых и корковых структур переднего мозга — центральном и латеральном ядрах миндалины, полях СА1 и СА3 гиппокампа, цингулярной извилине и сенсомоторной коре [5, 6, 8]. Предлагаемая работа является продолжением этого исследования. Исходя из того важного значения, которое в обеспечении специфической деятельности нейрона исполняют глиальные элементы, мы сочли целесообразным специальное изучение в вышеперечисленных структурах таких животных глиальной реакции.

### МАТЕРИАЛ И МЕТОДИКА

Работа выполнена на 20 белых половозрелых, нелинейных крысах-самцах, разделенных на 3 экспериментальные и 1 контрольную группы, по 5 особей в каждой. Экспериментальные животные в течение 40 (1-я группа), 90 (2-я группа) и 120 (3-я группа) дней находились в отдельных плексигласовых пеналах, в

которых расстояние от тела особи до стенки не превышало 3 см: таким образом, максимально ограничивалась возможность любых, самых элементарных движений; контрольную группу составляли животные из вивария. Всех крыс перфузировали под интраперитонеальным гексаноловым наркозом (40 мг/кг), введением через

сердечную аорту 2,5%-ного теплого раствора глутаральдегида на фосфатном буфере (рН—7,2—7,4). Координаты центрального и латерального ядер миндалины, полей СА1 и СА3 гиппокампа и цингулярной извилины находились по атласу Буресо [11], координаты сенсомоторной коры — по атласу Светухиной [10]. Ку-

сочки мозга, включающие нужные структуры, постфиксировали в смеси перекиси осмия, обезвоживали в спиртах восходящей концентрации и заливали в аралдит. Тонкие срезы получали на ультратоме Um-2 фирмы Рейхерт, контрастировали по прописи Рейнольда [13] и просматривали в электронном микроскопе JEI 100 С.

## РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

В глиальных элементах рассмотренных образований выявлен ряд ультраструктурных нарушений. Наиболее четко они выражены в лимбических структурах, сравнительно реже встречаются в новой коре. В ядрах минда-

Уже при 40-дневной гипокинезии в ряде астроцитарных форм миндалины и цингулярной извилины отмечают-ся реактивные сдвиги — несколько уменьшается и смещается к периферии ядерный хроматин, реже встречается ядрышко, в цитоплазме набухают и теряют кристы некоторые митохондрии, появляются миелиноподобные, ламеллярные и осмиофильные тела, лизосомоподобные включения, в отростках гипертрофируют пучки глиофибрилл; с другой стороны, по сравнению с контролем, чаще видны и астроцитарные формы, полностью лишенные глиофибрилл. Прямой контакт между телами нейрона и астроцита не наблюдался, однако в ряде случаев разной толщины и длины астроцитарные отростки подходят к соме и дендритам нейронов со сравнительно сохранной ультраструктурой и изолируют их на различном протяжении; в таких отростках можно увидеть гликоген, непосредственно под отростками же, в соме нейрона — субповерхностные цистерны. Концентрация гликогена часто отмечается и в других, находящихся в нейрониле, отростках (рис. 1а). В отличие от астроцитов, изменения в олигодендроцитах миндалины и цингулярной извилины при 40-дневной гипокинезии встречаются редко и выражаются преимущественно, в неглубоких, реактивных сдвигах ряда органелл. С удлинением экспериментального срока до 90 дней, изменения в миндалине и цингулярной извилине увеличиваются. Особенно хорошо это выражено в астроцитах, в которых часто просветляется цитоплазма, заметно уменьшается цитоплазматическая сеть, нарушается структура большинства митохондрий, отмечаются ламеллярные, осмиофильные и миелиноподобные тела, различные лизосомы. Сходным образом часто изменяются и пе-



Рис. 1. Изменения в глиальных клетках миндалины: а—концентрация гликогена в астроцитарных отростках в нейрониле центрального ядра миндалины крысы (влияние 40-дневной гипокинезии) · x 22 000; б—сложные лизосомы в микроглиоците центрального ядра миндалины крысы (влияние 90-дневной гипокинезии). x 48 000

лины и цингулярной извилине нарушения отмечаются, в основном, в астроцитах, в гиппокампе — сравнительно в равной степени — в астроцитах и олигодендроцитах, в новой коре же — преимущественно в олигодендроцитах.

рикапиллярные формы. Наблюдается также и реакция астроцитарных отростков — как и при 40-дневной гипокинезии, они подходят к соме и дендритам нейронов с разной степенью сохранности ультраструктуры, частично или со всех сторон окружают появляющиеся при данном экспериментальном сроке единичные темные дегенерирующие профили. Изредка видны и набухшие, полностью лишённые органелл астроцитарные отростки; они окружают сильно изменённые нейроны с очень высокой электронной плотностью цитоплазмы (рис. 1в). Признаки активации начинают отмечаться и в некоторых олигодендрокитах: заметно расширяется перинуклеарное пространство, в цитоплазме нарушается структура митохондрий, появляются большие миелиноподобные или осмиофильные тела, лизосомоподобные включения. Олигодендрокиты часто исполняют роль сателлитов, при этом создается впечатление об увеличении, по сравнению с контролем и ранним экспериментальным сроком, как числа нейронов с сателлитами, так и зоны их протяжения с нейроном. Часто отмечаются и различные ассоциации глиальных клеток — между телами астроцита и олигодендрокита, олигодендрокитами или астроцитами; астроцитарные отростки, в том числе с гипертрофированными глиофибриллами, могут проникать и между телами нейрона и глиальных элементов — как олигодендрокита, так и астроцита; выраженные реактивные изменения отмечаются и в микроглие (рис. 1, б).

Характер сдвигов несколько меняется при 120-дневной гипокинезии: нарушения отмечаются уже в большей части свободных и перикапиллярных форм, часто встречаются лишённые органелл, сильно гипертрофированные астроцитарные отростки, окружающие нейроны с существенными нарушениями; иногда такие отростки прослеживаются и между телами изменённого нейрона и сателлита-олигодендрокита, как бы мешая установлению между ними обычного контакта. Увеличиваются нарушения и в олигодендрокитах: в большинстве свободных и сателлитных форм меняется структура органелл, отмечаются миелиноподобные и осмиофиль-

ные включения; вместе с тем редкими (по сравнению с 40- и 90-дневной гипокинезией) становятся и сами сателлиты, несколько короткой выглядит и зона их контакта с нейроном; для последних обычно характерны существенные сдвиги в строении органелл.

В отличие от миндалины и цингулярной коры, в гиппокампе в сравнительно равной степени меняются и астроциты и олигодендрокиты. В частности, при 40- и 90-дневной гипокинезии в ряде астроцитов отмечается просветление цитоплазмы, пролиферация глиофибрилл, набухание отростков с дезинтеграцией органелл. Одновременно повышается электронная плотность цитоплазмы некоторых олигодендрокитов, появляются частично вакуолизированные митохондрии и немногочисленные осмиофильные включения. Эти сдвиги приобретают более глубокий характер при 120-дневной гипокинезии; в астроцитах наблюдается уже существенная пролиферация глиофибрилл, локальное набухание отдельных участков цитоплазмы и деструкция большинства органелл (рис. 2а); в олигодендрокитах — заметное увеличение массы перикариона, гипертрофия ядра, пролиферация митохондрий с плотным матриксом (рис. 2б); кроме этого, в обоих отмечается тенденция к накоплению плотных включений и лизосом (рис. 2в).

В противоположность лимбическим структурам, в новой коре изменения встречаются, в основном, в олигодендрокитах. Уже при 40-дневной гипокинезии нарушения в их свободных, сателлитных и перикапиллярных формах довольно многочисленны и выражаются в частичной вакуолизации ряда митохондрий и элементов цитоплазматической сети. С увеличением срока до 90 дней нарушения усложняются — вакуоли становятся более многочисленными и крупными, порой даже невозможно судить о происхождении некоторых из них (вакуолизация ли это каких-либо органелл или появление *de novo* в связи с нарушением водно-солевого обмена клетки) — рис. 3а; в ряде форм появляются сложные лизосомы и крупные ламеллярные тела; сателлиты-олигодендрокиты с разной степенью изменений часто и на значительном рас-

стоянии контактируют с нейронами — как нормальными, так и с нарушенными (рис. 3б, в). Приблизительно такая же картина видна в коре и при 120-дневной гипокинезии; в ряде случаев в зоне контакта глии с нейроном наблюдаются субповерхностные цистерны (рис. 3г), вместе с

присутствием небольших осмиофильных или ламеллярных включений. Наблюдаемая в лимбических структурах реакция астроцитов вдоль сомы, дендритов и аксонных терминалей, пропадание в них органелл, концентрация гликогена, гипертрофия глиофибрилл или самих отростков в

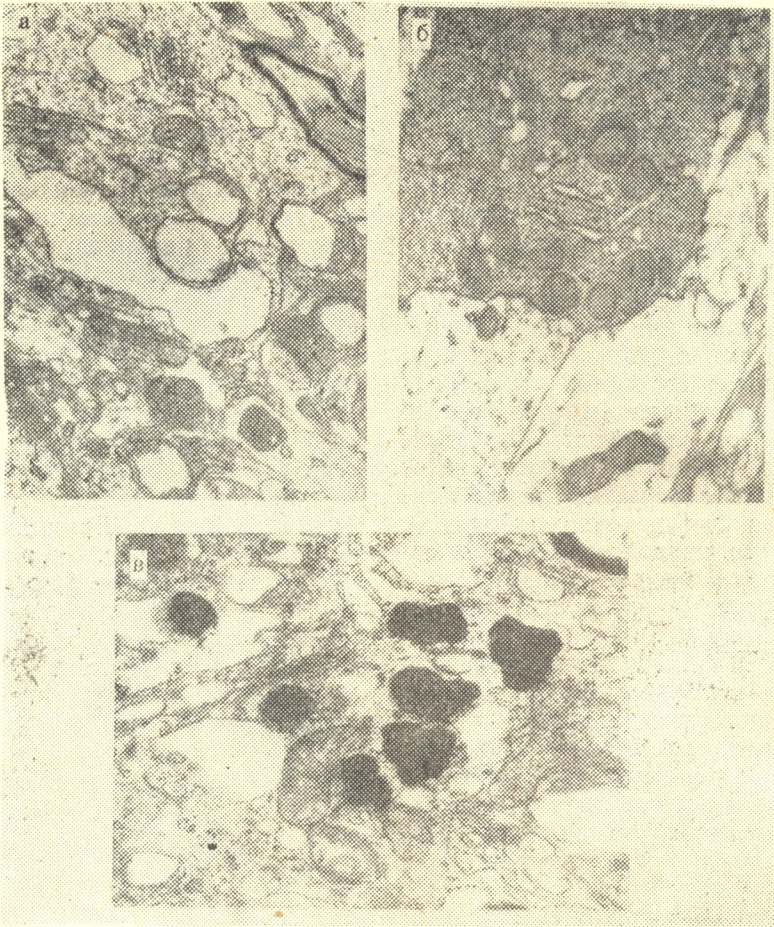


Рис. 2. Изменения в глиальных элементах гиппокампа: а—вакуолизованные цистерны цитоплазматической сети и деструктивные митохондрии в цитоплазме астроцита гиппокампа (влияние 120-дневной гипокинезии). х 32 000; б—гипертрофированная цитоплазма олигодендроцита гиппокампа с популяцией мелких митохондрий с темным матриксом (120-дневная гипокинезия). х 32 000; в—скопление плотных включений лизосом в цитоплазме олигодендроцита гиппокампа (влияние 120-дневной гипокинезии). х 32 000)

тем реже видны их измененные свободные формы. В отличие от лимбических структур, астроциты с тонкими сдвигами наблюдаются редко. Они появлялись лишь при 90- и 120-дневной гипокинезии и характеризовались неглубокими нарушениями органелл и

новой коре не выявлялись; реже, чем в лимбических структурах, встречался и прямой контакт между телами 2-х астроцитов или астроцита с олигодендроцитом.

Таким образом, существенное ограничение двигательной активности ос-

новные изменения вызывает: в миндалине и цингулярной извилине — в астроцитах; в гиппокампе — в астроцитах и олигодендроцитах; в новой коре — в олигодендроцитах. Характер этих изменений дает возможность высказать некоторые соображения. В

тических терминалей, эти отростки препятствуют поступлению к ним формации; присутствие в отдельных случаях в зоне соприкосновения нейрона и глии субповерхностных цистерн, вероятно, отражает активацию пластинчатого комплекса и усиление

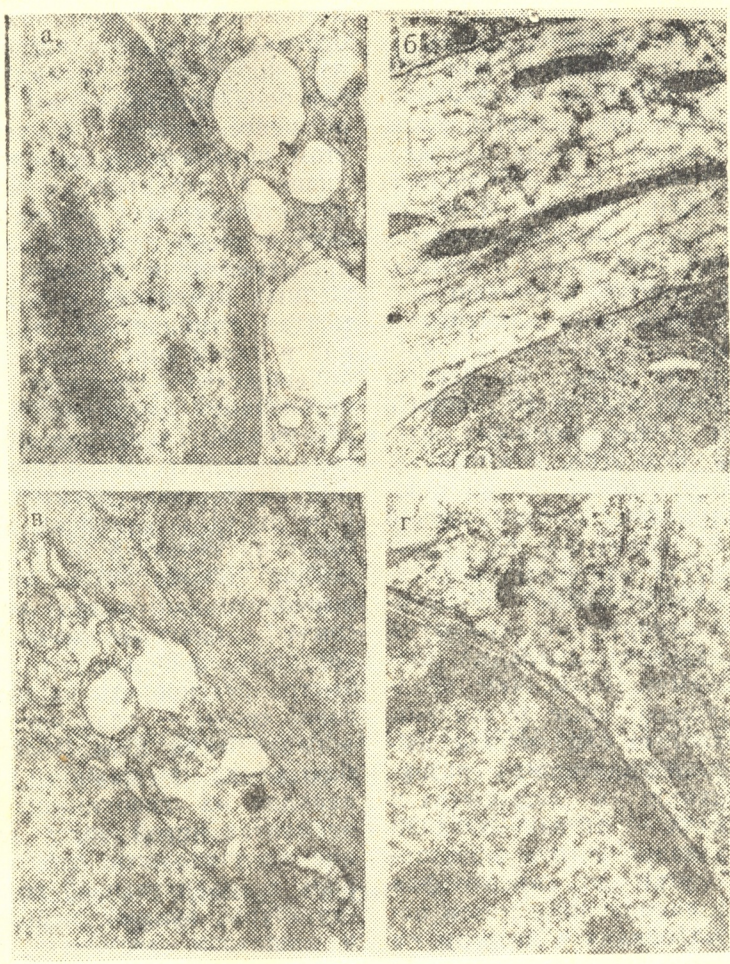


Рис. 3. Изменения в глиальных элементах соматосенсорной коры: а—образование крупных вакуолей в цитоплазме олигодендроцита (90-дневная гипокинезия); б—контакт олигодендроцита с проксимальным участком дендрита нейрона соматосенсорной коры (90-дневная гипокинезия); в—контакт олигодендроцита с вакуолизированной цитоплазмой и нейроном (влияние 90-дневной гипокинезии); г—олигодендроцит-сателлит; в зоне контакта наблюдается субповерхностная цистерна в цитоплазме нейрона (влияние 120-дневной гипокинезии). х 32 000

частности, при 40- и 90-дневной гипокинезии в миндалине и цингулярной извилине обращает на себя внимание реакция астроцитарных отростков вдоль нейронов с разной степенью сохранности ультраструктуры — изолируя на различном расстоянии их сому и крупные дендриты от присутст-

метаболизма между контактирующими элементами [2, 4, 14]. С другой стороны, накопление гликогена в ряде перинейрональных отростков может отражать изменение поступления глюкозы из глии в нейрон [3, 12]. Обращает также внимание и некоторая тенденция в характере изменений оли-

годендроцитов этих образований: можно предположить, что при данных сроках их реакция — за исключением появления небольшого числа клеток со структурными нарушениями — в основном, направлена на формирование новых модификаций нейро-глиальных взаимоотношений (увеличение, по сравнению с контролем, числа нейронов с сателлитами и зоны их контакта); причем в большинстве случаев структура нейронов, контактирующих с сателлитами, остается сравнительно сохранной. Такая картина, однако, отсутствует при 120-дневной гипокинезии: при данном сроке не только редко видны нейроны с сателлитами и уменьшена зона их контакта, но также заметно увеличено число свободных глиальных элементов с существенными структурными нарушениями. Тем не менее, на данном этапе нет никаких оснований говорить об истощении нейро-глиальных взаимоотношений; напротив, можно предположить, что при прекращении гипокинезии в миндалине и цингулярной коре возможна нормализация структуры большинства клеточных элементов и их взаимоотношений. В отличие от этого, характер и динамика реактивных сдвигов глиальных элементов гиппокампа, позволяющих предположить несколько иные механизмы адаптации в системе глия-нейрон: выявленная однонаправленность развивающихся сдвигов в астроцитах и олигодендроцитах — от вакуолизации цистерн гранулярной сети и митохондрий на 40-е сутки до гипертрофии перикариона с накоплением в нем осмиофильного материала и лизосом на 90- и 120-е сутки — свидетельствуют о нарастании компенсаторных процес-

сов и формировании «новых» механизмов для обеспечения специфического метаболизма нейронов. Важным, на наш взгляд, является и различие глиальной реакции в лимбических отделах и новой коре. Чем опосредовано то, что при одном и том же экспериментальном воздействии в лимбических структурах нарушения отмечаются чаще в астроцитах, в новой коре же — преимущественно в олигодендроцитах — нам неясно; тем не менее, можно допустить, что в этом проявляются определенные различия в структурно-функциональных характеристиках нейронов лимбических отделов и новой коры. Интерес представляет и наличие более выраженных изменений в глиальных элементах лимбических структур, тогда как в новой коре более сохранны как большинство глиальных форм, так и организация нейро-глиальных взаимоотношений. Такие данные коррелируют с большей, по сравнению с корой, выраженностью структурных сдвигов в нейронах и синапсах данных лимбических структур [5, 6]. В определенной степени это можно объяснить выработанными в ходе эволюции высокими пластическими свойствами корковых нейронов, их способностью быстро реагировать на изменения условий среды — адаптироваться к ним в кратчайший срок. Вместе с тем наблюдаемая в данном исследовании реакция на гипокинезию глиальных элементов новой коры дает основание предположить, что определенную роль в сравнительной сохранности ее структуры, видимо, исполняют также и глиальные элементы и, особенно, организация ее нейро-глиальных взаимоотношений.

#### ЛИТЕРАТУРА

1. Атьков О. Ю., Бедненко В. С. Гипокинезия и невесомость, «Наука», М., 1989.
2. Бабмидра Н. В., Брагина Т. А. В кн.: Функции нейроглии, «Мецниереба», Тбилиси, 1984, 48—53.
3. Боголепов Н. Н. Ультраструктура мозга при гипоксии, «Медицина», М., 1978.
4. Дзамоева Э. И., Лазриев И. Л., Кикнадзе Г. И., Абашидзе Н. В. Архив анатомии, гистологии и эмбриологии, 98, 1, 34—39, 1990.
5. Жвания М. Г., Блиадзе М. Г. Архив анатомии, гистологии и эмбриологии, 98, 1, 27—34, 1990.
6. Какабадзе И. М., Блиадзе М. Г. Мат. Всес. конф. «Сравнительная физиология ВНД человека и животных», МГУ, М., 1, 1990, 93—94.
7. Коваленко Е. А., Гуровский Н. И. Гипокинезия, «Медицина», М., 1980.
8. Костенко Н. А., Какабадзе И. М. Изв. АН СССР, сер. биол., 16, 4, 230—236, 1990.





9. Поппай М., Гехт К., Морид В. ЖВНД, 927, 2, 384—389, 1977.  
 10. Светухина В. М. Архив анатомии, гистологии и эмбриологии, 42, 2, 36—45, 1962.  
 11. Bures J., Petran N., Zachar J. Electrophysiological methods in biological

research. Publishing House of Czechoslovak Academy of Sciences, Prague, 1967.  
 12. Ibrahim M. J. Neurol. Sci., 17, 271—279, 1972.  
 13. Reynolds R. S. Cell Biology, 17, 1, 208—221, 1963.  
 14. Watanabe H. J. Comparative Neurology, 200, 328—338, 1981.

ჰიპოკინეზიის გავლენა ვირთაგვას თავის ტვინის ზოგიერთი წარმონაქმნის გლიური ელემენტების ნატივ ალნაგობაზე

მ. ჯვანია, ი. კაკაბაძე

საქართველოს მეცნიერებათა აკადემიის ი. ბერიტაშვილის სახელობის ფიზიოლოგიის ინსტიტუტი, თბილისი

რ ე ზ ი უ მ ე

შესწავლილია 40, 90 და 120-დღიანი ჰიპოკინეზიის გავლენა ნუშისებრი სხეულის ცენტრალური და ლატერალური ბირთვების, ჰიპოკამპის CA<sub>1</sub> და CA<sub>3</sub> კვლების, ცინგულარული ხვეულის და სენსომოტორული ქერქის გლიური ელემენტების ნატივ ალნაგობაზე. აღნიშნულ უბნებში შეიმჩნევა რიგი სტრუქტურული ცვლილებები. კერძოდ, ნუშისებურ სხე-

ულსა და ცინგულარულ ხვეულში ძირითად ასტროციტებში, ჰიპოკამპში შედარებით თანაბრად ასტროციტებსა და ოლიგოდენდროციტებში, ახალ ქერქში უპირატესად — ოლიგოდენდროციტებში. ექსპერიმენტული ვადის ზრდასთან ერთად ცვლილებები უფრო მრავალრიცხოვანი და მკაფიოდ გამოხატული ხდება.

THE INFLUENCE OF HYPOKINESIA ON ULTRASTRUCTURE OF GLIAL CELLS IN SOME REGIONS OF RAT'S FOREBRAIN

M. ZHVANIA, I. KAKABADZE

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

S u m m a r y

The ultrastructure of glial elements of central and lateral nuclei of amygdala, cingular cortex, CA 1 and CA 3 areas of hippocampus and sensomotor area of neocortex was investigated in rats maintained 40, 90 and 120 days in conditions of hypokinesia. Some ultrastructural changes were observed. In amygdala and cingular cortex numerous changes were seen in astrocytes, in hippocampus in astrocytes, and oligodendrocytes, in neocortex—predominantly—in oligodendrocytes—free satellites and pericapillar forms.

The changes in astrocytes are: the destruction of some organells, the appearance of osmiophilic and membranelike bodies, the hypertrophy of gliofibrills, in some cases—the concentration of glicogen in astrocytes processes and the swelling of the latter. The changes in oligodendrocytes are: the destruction or vacuolization of some organells and the presence in cytoplasm of big osmiofilic or lysosome-like bodies.

УДК 616—006.442.2

ЦИТОЛОГИЯ

## ПРИБРЕТЕННЫЙ ИММУНОДЕФИЦИТ И ЗЛОКАЧЕСТВЕННАЯ ОПУХОЛЬ — ЗАБОЛЕВАНИЯ ЕДИНОГО ЭТИОПАТОГЕНЕЗА

Г. К. Гогичадзе, Ф. Г. Долидзе, В. А. Пириашвили

*НИИ гематологии и переливания крови им. Г. М. Мухадзе МЗ  
Республики Грузия, Тбилиси*

Поступила в редакцию 22.04.92

В основе возникновения синдрома приобретенного иммунного дефицита различного генеза и злокачественных опухолей может лежать единый клеточный механизм. При одновременной реализации указанных патологических процессов преобладание одного над другим, видимо, будет зависеть от дозы или интенсивности действия одних и тех же этиологических факторов, способных индуцировать процесс соматической гибридации.

В наших ранних работах был предложен клеточный механизм для объяснения возникновения опухолевых новообразований при вирус-индуцированном синдроме приобретенного иммунного дефицита (СПИД-е) [5]. Данные, полученные в результате дальнейших исследований в этом направлении, а также анализ работ других исследователей, свидетельствующих о довольно частом возникновении состояния иммунного дефицита при онкологических заболеваниях и наличии опухолевых новообразований при СПИД-е [14, 16], позволили нам в настоящей статье сделать предположение о существовании общего (единого) этиопатогенеза для иммунодефицитов и злокачественных новообразований.

Другими словами, по нашему мнению, в основе возникновения иммунодефицита различного генеза и злокачественных опухолей может лежать единый клеточный механизм. При одновременной реализации указанных патологических процессов преобладание одного над другим, видимо, будет зависеть от дозы или интенсивности действия одних и тех же этиологических факторов, способных вызы-

вать процесс соматической гибридации — слияние клеток.

Мы заинтересовались работами, в которых указывается на наличие при иммунодефиците многоядерных клеточных образований — поликариоцитов, образующихся в основном в результате слияния лимфоидных клеток и макрофагов [12, 13]. Поликариоциты не могут вступать в S-период и митоз и вскоре погибают. Соответственно, процесс слияния иммунокомпетентных клеток, с образованием поликариоцитов, является для них своего рода «ловушкой» и может привести к существенному уменьшению количества этих клеток, способствуя развитию иммунного дефицита.

Можно предположить, что образование поликариоцитов не происходит синхронно, т. е. в организме они могут находиться на различных стадиях своего формирования. Не исключено также, что часть поликариоцитов образуется путем последовательного (а не одновременного) слияния клеток, т. е. вначале происходит слияние двух клеток, а не сразу нескольких. Исходя из этих предпосылок, можно принять, что в пораженном иммунодефицитом организме, наря-

ду с поликариоцитами могут существовать и двуядерные клетки-дикарионы, сформировавшиеся посредством слияния двух клеток.

Ранее нами было обосновано, что дикарионы после ряда превращений могут трансформироваться в опухолевый синкарион [2]. В силу различных причин некоторые дикарионы, образованные при иммунодефиците, могут не включаться в последующие стадии слияния или же процесс их дальнейшего слияния может протекать со скоростью значительно меньшей средней скорости образования поликариоцитов. Соответственно, такие дикарионы могут находиться в организме наряду с поликариоцитами в течение времени, достаточного для проявления действия различных факторов, способствующих превращению дикарионов в синкарионы.

Так как в формировании поликариоцитов в основном участвуют иммунокомпетентные клетки, кажется естественным, что образование дикарионов при иммунодефицитах также должно происходить с участием лимфоидных клеток и макрофагов. В силу того, что они являются доминантными по фенотипическим свойствам, злокачественные клетки, образованные в результате слияния при иммунодефиците, должны иметь главным образом лимфоидную, макрофагальную или же промежуточную морфологию.

Известно, что при вирус-индуцированном СПИД-е наиболее часто проявляется саркома Капоши, при которой в первую очередь поражается кожа, подкожная клетчатка, а также практически все внутренние органы. Установлено также, что клеточным субстратом данного новообразования являются т. н. веретенообразные клетки, происхождение которых до сих пор остается неясным. В то же время кожа все чаще рассматривается как орган иммуногенеза, где иммунокомпетентные клетки могут взаимодействовать с эпидермоцитами и другими клетками кожи. Убивитарность макрофагов общеизвестна, по некоторым же данным определенные типы Т-лимфоцитов также могут мигрировать в кожу, а эпидермис вырабатывает гормон, способствующий созреванию этих клеток [6]. Известно также, что вирус иммунодефицита чело-

века (ВИЧ), наряду с иммунокомпетентными клетками, может поражать эпителиальные клетки кожи и локализованные в ней клетки Лангерганса [10, 14]. Следовательно, частое возникновение саркомы Капоши при иммунодефиците может быть связано со слиянием Т-лимфоцитов и макрофагов с эпидермоцитами или же с клетками Лангерганса с образованием веретенообразных клеток. Кстати, эти клетки по некоторым морфо-функциональным признакам напоминают макрофаги. В частности, они нередко проявляют признаки фагоцитарной активности, в их цитоплазме обнаруживают эритроциты или же гранулы гемосидерина и т. п. [7].

Мы считаем, что причиной возникновения лимфосарком при иммунодефиците может также служить слияние различных иммунокомпетентных клеток (находящихся на различных стадиях созревания) как друг с другом, так и с клетками другого гистогенеза. Кроме того, процесс клеточного слияния может объяснить возникновение опухолей лимфоидного и макрофагального генеза при аллотрансплантациях внутренних органов, а также при аутоиммунных процессах [3, 4]. Вероятно, в этих случаях возникают иммунные конфликты, способствующие различным кооперациям иммунокомпетентных клеток с клетками трансплантата, что может создать благоприятные условия для образования дикарионов и последующего формирования опухолевой клетки.

Другой общеизвестный факт, привлекавший наше внимание, это частое проявление состояния иммунного дефицита при онкологических заболеваниях. Как уже отмечалось выше, клеточное слияние может являться причиной возникновения злокачественной клетки. Следует учитывать, что опухолевым субстратом может служить лишь ничтожное количество слившихся клеток, а большая их часть не способна к трансформации в опухолевую клетку и в конечном счете элиминируется. Соответственно, если опухолевым субстратом являются иммунокомпетентные клетки (как например при хроническом лимфолейкозе, лимфосаркомах, монобластных саркомах и т. д.), то их элими-

нация, проходящая параллельно с процессом озлокачествления, будет способствовать возникновению состояния иммунного дефицита.

В некоторых случаях, в частности при раке легкого, возникновение состояния иммунного дефицита не является столь очевидным, как при вышеуказанных заболеваниях. Однако, учитывая, что факторы, стимулирующие слияние клеток и локализованные при данном заболевании главным образом в легких, могут транспортироваться в органы иммуногенеза, представляется возможным участие в процессе слияния иммунокомпетентных клеток с возникновением иммунодефицита при раке легкого. Нам вообще кажется маловероятным, что действие какого-либо тропного к легким (или к другим органам) этиологического фактора может обойти органы иммуногенеза, так как последние представляют собой достаточно развитую сеть, охватывающую практически все органы.

Перенос факторов, способствующих клеточному слиянию, от одного органа к другому возможен, в принципе, при всех онкологических заболеваниях. Следовательно, будет существовать вероятность возникновения иммунодефицита при многих онкологических заболеваниях, а также одновременного развития опухолей в различных органах (последнее подтверждается клиническими наблюдениями).

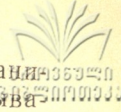
Таким образом, процесс клеточного слияния может способствовать развитию иммунного дефицита (в результате образования поликариоцитов из иммунокомпетентных клеток) и проявлению при СПИД-е различного генеза онкологических заболеваний (путем формирования дикарионов). С другой стороны, определенные онкологические заболевания сопровождаются состоянием иммунного дефицита, которому может способствовать элиминация большей части дикарионов, в образовании которых участвуют иммунокомпетентные клетки.

Следовательно, практически все факторы, способствующие слиянию клеток (т. н. фузогенные факторы), можно в принципе рассматривать в качестве возможных причин как возникновения состояния иммунного дефицита, так и формирования злокаче-

ственной опухоли и одновременной реализации этих двух процессов. Следует отметить, что согласно нашим предварительным исследованиям многие канцерогены, видимо, способны обладать фузогенными свойствами [11]. Мы склонны считать, что преобладание одного из указанных патологических процессов над другим, видимо, зависит от дозы или интенсивности действия фузогенного (канцерогенного) фактора. На наш взгляд, при относительно малых дозах (или низкой интенсивности действия) фузогенного фактора в процесс слияния вовлекается незначительное количество клеток, при этом вероятность задержки данного процесса на фазе дикариона выше вероятности образования поликариоцита. Напротив, при больших дозах (или высокой интенсивности действия) фузогенного фактора в процесс слияния может вовлекаться большое количество клеток, достаточное для образования поликариоцитов. Соответственно, в этой ситуации число поликариоцитов будет существенно превышать число дикарионов.

Следовательно, при малых дозах (или низкой интенсивности действия) фузогенного фактора более вероятно возникновение онкологического заболевания, сопровождающегося состоянием иммунного дефицита. Большие дозы (или высокая интенсивность действия) фузогенного фактора должны способствовать развитию иммунодефицита, которому могут сопутствовать онкологические заболевания.

Предположение о важности дозы (интенсивности) действующего на организм фузогенного фактора для конечного результата (развития иммунодефицита или злокачественных опухолей) подтверждают и литературные данные, согласно которым высокая канцерогенность отмечается именно при действии малых доз облучения, вирусов низкой вирулентности и низких концентрациях химических канцерогенов. Например, оказалось, что лица, подвергшиеся сравнительно большим дозам облучения (от 1 до 6 и более Гр) при атомной бомбардировке Хиросимы и Нагасаки [1], преимущественно страдали лучевой болезнью, которая по своей симптоматике, клиническим проявлениям и иммуно-гематологическим показателям



практически не отличается от состояния иммунного дефицита. В то же время при малых дозах облучения (0,2—1 Гр) главным образом развивались онкологические заболевания. Известна также способность ретровирусов индуцировать одновременно инфекционные, онкогенные и иммунодепрессивные процессы. Например, вирус Т-клеточного лейкоза человека, как и вирусы лейкозов мышей, характеризуются способностью индуцировать как лейкоз, так и иммуносупрессию [9]. Установлено, что именно малые и средние дозы канцерогенных углеводородов способствуют возникновению опухолей, при больших же дозах наблюдаются тяжелые токсические изменения.

Поскольку клеточное слияние, по нашему мнению, играет ведущую роль в возникновении иммунодефицита различного генеза и злокачественных новообразований, видимо, следует коротко остановиться на нашем представлении о механизме стимулирующего действия фузогенных факторов на процесс клеточного слияния. По нашим данным [11], а также согласно

некоторым более ранним исследованиям [8], фузогенные факторы вызывают возникновение дефектов клеточной мембраны, главным образом сквозных канальцев, что в конечном счете меняет электрические характеристики мембраны. Эти обратимые изменения могут в свою очередь облегчить межклеточные контактные взаимодействия и способствуют процессу слияния. Такой механизм слияния представляется довольно универсальным. Он в частности позволяет объяснить процесс образования поликариоцитов не только при ВИЧ-индуцированном СПИД-е (когда мембранные дефекты могут возникать за счет действия вирус-специфического гликопротеида gp 120 с клеточным антигеном CD4), но и при иммунных дефицитах невирусного генеза.

Изложенное в настоящей статье позволяет по-новому взглянуть на процессы возникновения иммунодефицитов и онкологических заболеваний и предположить наличие единого этиопатогенеза для этих двух патологических состояний.

## ЛИТЕРАТУРА

1. Балаж А. Биология опухолей, М., «Мир», 1987.
2. Гогичадзе Г. К. Гематол. трансфузиол., 6, 54—57, 1989.
3. Гогичадзе Г. К. Изв. АН Грузии, сер. биол., 6, 378—383, 1991.
4. Гогичадзе Г. К. Иммунология, 2, 58—59, 1992.
5. Гогичадзе Г. К., Дolidze Ф. Г. Изв. АН Грузии, сер. биол., 5, 301—306, 1992.
6. Казанцева И. А., Бельская О. Б., Безуглова Т. В. Арх. патол., 6, 61—64, 1988.
7. Каламкарян А. А., Акимов В. Г., Казанцева И. А. Саркома Капоши, Новосибирск, «Наука», 1986.
8. Arvinte T., Cudd A., Schulz B., Nicolau C. Bioch. et Bioph. Acta, 981, 61—68, 1989.
9. Aziz D. C., Hanna Z., Jolicœur P. Nature. 338, 6215, 505—508, 1989.
10. Braathen L. R., Ramirez G., Kunze R. O. F., Mork S., Gelderblom H. Langerhans cell: Proc. 2-nd Workshop, Lyon, Paris, London, 1988, 441—448.
11. Gogichadze G., Dolidze T., Beniashvili D., Piriashvili V. I conf. of intern. Fed. of Societes of Toxicol. Pathologists "Current methods for the evaluation of Pathology in Toxicology" Nagoya, Japan, 1992, 32.
12. Gray F., Gauland P., Le Bezu M., Sinclair E., Gherardi R., Scaravilli F., Poirier J. J. Histopathol., 16, 4, 402—405, 1990.
13. Rinfret A., Latendresse H., Lefebvre R., St-Louis G., Jolicœur P., Lamarre L. Amer. J. Pathol., 138, 2, 421—426, 1991.
14. Stingl G., Rappersberger K., Tschachler E., Gartner S., Groh V., Mann D. L., Wolff K., Popovic M. J. Amer. Acad. Dermatol., 22 (Pt 2), 1210—1217, 1990.
15. Tucker J. J. electr. microsc. Technol., 8, 1, 137—158, 1988.
16. Symposium on cancer in patients with AIDS. J. Cancer Res. and Clin., Oncol., 115, 5, 479—480, 1989.

სხვადასხვა წარმოშობის იმუნოდეფიციტი და სიმსივნეები,  
როგორც ერთიანი ეტიოპათოგენეზის მქონე  
დაავადებები

ბ. გოგიჩაძე, თ. დოლიძე, ვ. ფირიაშვილი

საქართველოს ჯანმრთელობის დაცვის აკად. გ. მუხაძის სახელობის ჰემატოლოგიის  
და სისხლის გადასხმის ს/კ ინსტიტუტი, თბილისი

რ ე ზ ი უ მ ე

სხვადასხვა გენეზის იმუნურ დეფიციტსა და ავთვისებიან სიმსივნეებს შესაძლოა გააჩნდეთ წარმოშობის ერთი და იგივე უჯრედული მექანიზმი. სავარა-

უდოა, რომ ორივე პათოლოგიურ პროცესს იწვევს ერთი და იგივე ეტიოლოგიური ფაქტორები, რომელთაც გააჩნიათ სომატური ჰიბრიდიზაციის უნარი.

## ON THE POSSIBLE IDENTITY OF THE GENESIS OF AIDS AND ONCOLOGICAL DISEASES

G. GOGICHADZE, T. DOLIDZE, V. PHIRIASHVILI

G. Mukhadze Institute of Haematology and Blood Transfusion, Georgian  
Ministry of Health, Tbilisi

### S u m m a r y

The identity of etiopathogenesis of the development of AIDS and oncological diseases has been assumed. At high doses of various etiological factors the manifesta-

tion of AIDS seems more possible while at low ones probability of the development of oncological diseases may be higher.

УДК 591.444.2

ЦИТОЛОГИЯ

## МОРФОЛОГИЧЕСКИЕ ИЗМЕНЕНИЯ ЩИТОВИДНОЙ ЖЕЛЕЗЫ КРЫС ПРИ ГИПОКИНЕЗИИ

З. Г. Мгалоблишвили

*Грузинский зооветеринарный учебно-исследовательский институт, Тбилиси*

Поступила в редакцию 20.03.91

Ограничение двигательной активности в крысах приводит как к структурному, так и к функциональному изменению, на что указывает сперва увеличение функциональной активности, а позже — ее уменьшение. Выявление морфологической реакции фолликулярного аппарата и его микроциркуляторного русла довольно типично и выражается в увеличении высоты тироцитов, в активации биосинтетического и биоэнергетического аппарата, в уменьшении утолщения коллоида, в расширении перифолликулярных капилляров и в увеличении проходимости их стенок.

К числу наиболее распространенных этиологических и патогенетических факторов внешней среды, влияющих на функцию щитовидной желе-

зы и носящих неспецифический характер, в последние 10—15 лет относят ограничение двигательной активности (гипокинезию).

### МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ

Исследование выполнено на крысах-самцах линии Вистар. Животные помещались в специальные клетка-пеналы по методике Л. И. Полянской [12]. Изучены возрастные особенности морфологической перестройки щитовидной железы при гипокинезии. Для этой цели использовали крыс трех возрастных групп: 1, 6 и 24 месяцев. В каждой группе по 21 животному

забивались спустя 1, 10 и 30 суток после ограничения двигательной активности.

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

### РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

Спустя сутки после ограничения двигательной активности у 1-месячных крыс обнаруживаются слабо выраженные изменения щитовидной железы, свидетельствующие о нарастании функциональной активности фолликулярного аппарата. Высота тироцитов несколько увеличивается. Уровень васкуляризации фолликулярного аппарата также несколько возрастает. Через 10 суток гипокинезии продолжает нарастать выраженность

морфологических признаков активации функции щитовидной железы. Среди фолликулов преобладают мелкие. Ядра тироцитов содержат меньше гетерохроматина, увеличивается ворончатость апикальной цитолеммы. Однако наиболее характерным морфологическим проявлением реакции щитовидной железы на гипокинезию является активное вовлечение в этот процесс микроциркуляторного русла. Многие сосуды веноулярного звена

циркуляции, а также капилляры переполнены кровью. При этом одновременно с увеличением поросности стенок перифолликулярных гемокapилляров увеличивается везикуляция цитоплазмы эндотерицитов прекапилляров и венул. В процесс гиперемии вовлечены плазматические клетки. Многие из них подвергаются дегрануляции. В капиллярах, наряду с ростом числа фенестр, обнаруживается локальный отек субэндотелиального пространства. На коррозийных препаратах заметно усиление уровня васкуризации фолликул.

Через 30 суток гипокинезии наблюдается некоторое угнетение функциональной активности щитовидной железы, в то же время сохраняется довольно много мелких фолликулов с кубическими тироцитами. Уплотнение тироцитов идет параллельно с постепенным включением из кровотока, а впоследствии и запустеванием некоторых перифолликулярных гемокapилляров. Это явление имеет мозаичный характер и хорошо видно на коррозийных препаратах.

Развитие морфологических изменений в щитовидной железе в ответ на гипокинезию у 6-месячных крыс полностью соответствует данным, полученным Л. И. Полянской [12]. Отме-

ние числа фенестр в периферической зоне эндотелиоцитов перифолликулярных гемокapилляров, повышение уровня капилляризации фолликулов.

Через 10 суток выраженность морфологических изменений увеличивается как в тироцитах, так и в строме органа. Возрастает кровенаполнение микрососудов. Повышение перфорированности эндотелиальной выстилки перифолликулярных гемокapилляров коррелирует с их повышенной заполняемостью инъекционной массой. Наблюдается увеличение числа плазматических клеток в строме и более частая их дегрануляция.

Через 30 суток, наряду с сохранением отдельных фолликулов в состоянии увеличенной функциональной активности, отмечается постепенное нарастание числа крупных фолликулов, высланных плоскими тироцитами. Мозаичность изменений является наиболее характерным морфологическим проявлением данной реакции. На коррозийных препаратах видно где сохраняется повышенное кровенаполнение перифолликулярных микрососудов и где порозность стенок капилляров увеличена (рис. 1).

У старых (24-месячных) крыс реакция щитовидной железы на гипоки-

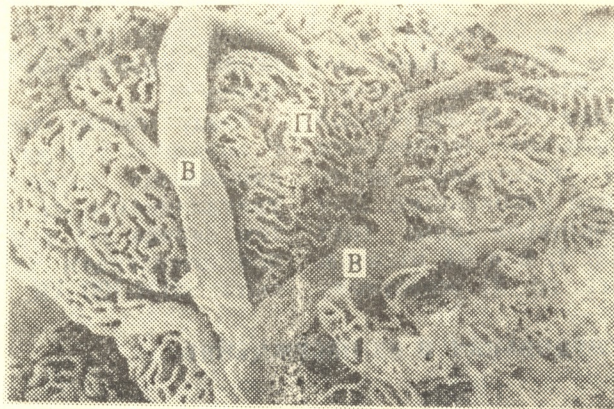


Рис. 1. Щитовидная железа 6-месячной крысы после 30-дневной гипокинезии (коррозийный препарат; снижение степени васкуляризации фолликулов) СЭМ x 110

тим лишь некоторые отличительные особенности реорганизации тироцитов.

Спустя 1 сутки обнаруживается увеличение высоты тироцитов, гипертрофия их биосинтетического и биоэнергетического аппарата, возраста-

ет такая же. Через 1 сутки начинают проявляться признаки усиления функциональной активности. Высота фолликулов несколько увеличивается по сравнению с контрольными животными. Происходит гипертрофия био-



синтетического и биоэнергетического аппаратов, ворсинчатость апикальной цитолемы несколько возрастает. Отмечается рост фенестрированности эндотелия кровеносных капилляров (рис. 2). Происходит неравномерное нарастание кровенаполнения фолликулярных микрососудов, хотя как в пределах одного фолликула, так и в группе смежных фолликулов выявляются резко истонченные слепки капилляров.

Через 10 дней функциональная активность щитовидной железы крыс

исходный уровень. Резко увеличивается число гигантских фолликулов, уплощенными тироцитами. Прогрессирует процесс запустевания микроциркуляторного русла, многие гемокapилляры не перфузируются и заполнены плазмой.

На основании вышеизложенных данных, ограничение двигательной активности крыс приводит к изменениям структурно-функциональных показателей щитовидной железы, свидетельствующих о повышении, а позже о понижении ее функциональной ак-

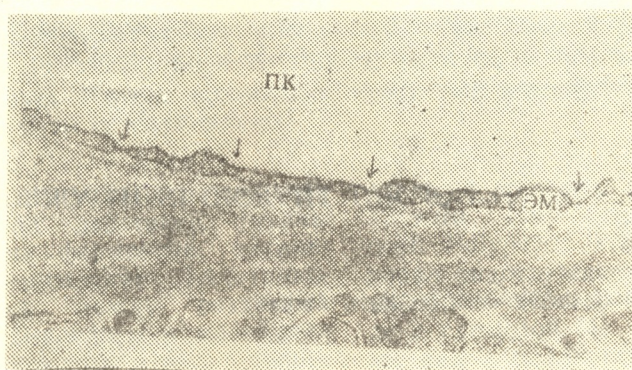


Рис. 2. Щитовидная железа 24-месячной крысы после 1-дневной гипокинезии (ПЭМ; увеличение фенестрированности кровеносных капилляров). х 30 000

данной возрастной группы достигает максимума. Высота тироцитов существенно возрастает. Но даже в активированных тироцитах встречаются дистрофические изменения в виде вторичных лизосом и миелиновых фигур.

Спустя 30 дней четко виден резкий спад функциональной активности железы. Степень выраженности морфологических показателей, свидетельствующих о ее гипофункции, превышает

твности. Морфологические проявления реакции фолликулярного аппарата и его микроциркуляторного русла довольно типично и выражается в увеличении высоты тироцитов, активации их биосинтетического и биоэнергетического аппарата, снижении густоты и изменении тинкториальных свойств заполняющего фолликулы коллоида, расширении перифолликулярных кровеносных капилляров, увеличении проницаемости их стенки.

#### ЛИТЕРАТУРА

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

ზ. მგალობლიშვილი

ზოოვეტერინარული სასწავლო-კვლევითი ინსტიტუტი, თბილისი

რ ე ზ ი უ მ ე

ვირთაგვევში მამოძრავებელი აქტიურობის შეზღუდვას მიეყვართ ფარისებრი ჯირკვლის როგორც სტრუქტურული, ისე ფუნქციური მონაცემების ცვლილებამდე, რაც დასტურდება ფუნქციური აქტიურობის ჯერ მომატებით, ხოლო მოგვიანებით — დაქვეითებით. ფოლიკულარული აპარატისა და მისი მიკროცირკულატორული კალაპოტის მორფოლოგიური რეაქ-

ციის გამოვლენა საკმაოდ ტიპურია და გამოიხატება თიროციტების სიმაღლის მატებაში, მათი ბიოსინთეზური და ბიოენერგეტიკული აპარატის გააქტიურებაში, კოლოიდის შესქელების შემცირებაში, პერიფოლიკულარული კაპილარების გაფართოებასა და მათი კედლების გამტარუნარიანობის გადიდებაში.

## MORPHOLOGICAL CHANGES OF RAT THYROID IN HYPOKINESIA

Z. MGALCBLISHVILI

Zooveterinary Educational and Research Institute, Tbilisi

### S u m m a r y

Restriction of rat moving activity results in changes of structural and functional indices of thyroid evidencing its activity. Morphological manifestation of follicular apparatus response and its microcirculatory bed is rather typical and is expressed by thyrocyte height enhancing,

activation of their both biosynthetic and bioenergetic apparatus, decreasing of thickness of follicular filling colloid, perifollicular blood capillary enlargement. Their walls carry signs of increasing of permeability and growth of endothelial line porosity.

УДК 577.154

БИОХИМИЯ

## НЕКОТОРЫЕ СВОЙСТВА ЧАСТИЧНО ОЧИЩЕННЫХ ПРЕПАРАТОВ ЦЕЛЛЮЛАЗЫ И КСИЛАНАЗЫ *PIPTORPORUS* *BETULINUS* ИБК-327 и *CERRENA UNICOLOR* 062

Н. Г. Кохреидзе, В. И. Элисашвили, Г. И. Квеситадзе

Институт биохимии растений АН Грузии, Тбилиси

Поступила в редакцию 5.06.92

Из культуральных жидкостей высших базидиальных грибов *Cerrena unicolor* 062 и *Piptoporus betulinus* ИБК-327 выделены и частично очищены ксиланаза и целлюлаза. Изучены активность и стабильность ферментов в зависимости от pH и температуры их инкубирования.

Разложение целлюлозы и ксиланов происходит под действием группы гидролитических ферментов, катализирующих расщепление 1,4-β-гликозидных связей между остатками D-глюкозы и D-ксилозы в молекулах целлюлозы и ксилана и их растворимых производных. Наиболее распространенным ферментом целлюлазного комплекса является эндо-1,4-β-глюканаза (КФ 3.2.1.4), а ксиланазного — эндо-1,4-β-D-ксиланаза (КФ 3.2.1.8), катализирующие неупорядоченный гидролиз любой гликозидной связи в молекулах полисахаридов, приводя к образованию целлоолигосахаридов различной степени полимеризации и, соответственно, целлобиозы и ксилобиозы [2, 12].

Целлюлазные и ксиланазные комплексы высших базидиальных грибов изучены слабо. Из культуральной жидкости *Ipex lacteus* было выделено несколько эндоглюканаз, одна из которых  $S_1$  с молекулярной массой 56 кДа вызывала осахаривание авицелла и КМЦ и обладала ксиланазной активностью, другая —  $F_1$  — осуществляла в основном гидролиз КМЦ (осахаривающая активность к КМЦ была в 150 раз выше, чем к авицеллу), третья —  $F_2$ , также как и  $S_1$ , более эффективна была по отношению к

авицеллу, но имела молекулярный вес 77 кДа [10]. Дереворазрушающий гриб *Polyporus schweinitzii* продуцировал эндоглюканазу с молекулярной массой 45 кДа во время роста в среде с глюкозой [4]. Этот фермент, так же как и целлюлазы грибов из рода *Coprinus* - *C. domesticus*, *C. radians*, *C. micaseus*, не были способны к гидролизу нерастворимого субстрата, но снижали вязкость и осахаривали КМЦ [1]. Сравнительно высокомолекулярная β-глюкозидаза (200 кДа) с оптимумом активности при pH 4,3 и температуре 45° была выделена из культурального фильтрата *Coriolus versicolor* [7].

Ксиланаза *Lentinula edodes* является неразветвляющим ферментом эндотипа с молекулярной массой 41 кДа, изоэлектрической точкой 3,6 и оптимумом pH 4,5—5,0. Она характеризуется относительно высоким температурным оптимумом, равным 60°, и способностью на 40—60% осахаривать ксилан. Константа Михаэлиса ( $K_m$ ) ксиланазы оказалась равной 0,66 мг/мл.

В настоящей работе приводятся результаты частичной очистки и изучения ряда свойств внеклеточных целлюлаз и ксиланаз высших базидиомицетов *Cerrena unicolor* 062 и *Piptoporus betulinus* ИБК-327.

Ферментный препарат *S. unicolor* 062 получали из культуральной жидкости гриба, выращенного в глубинных условиях на среде [5], содержащей 2% отходов чайного производства и 2% цитрусового жома, а *P. betulinus* ИБК-327 — экстракцией водой после твердофазной ферментации той же комбинации субстратов.

Выделение ферментов из культуральной жидкости осуществляли осаждением сульфатом аммония при 75%-ном насыщения. Осадки растворяли в 0,02 М ацетатном буфере и наносили по 1 мл на колонку размером 51 × 1 см с Ultragel AcA 34, уравновешенную тем же буфером. Скорость элюции ацетатным буфером — 15 мл/ч, объем фракций — 3 мл.

Ксиланазную и целлюлазную (КМЦазную) активности определяли согласно стандартным методам IUPAC [8] по освобождению редуцирующих сахаров при инкубировании 250 мкл соответствующим образом разбавлен-

ного фермента с 250 мкл 2%-ных растворов ксилана или КМ целлюлозы в 0,05 М ацетатном буфере, pH 5,0. Время инкубации при температуре 40° — 30 мин. Содержание редуцирующих сахаров в реакционной смеси определяли с помощью динитросалициловой кислоты по предварительно построенной калибровочной кривой по глюкозе и ксилозе. Поглощение исследуемых растворов измеряли спектрофотометрически при 540 нм. За единицу ксиланазной и КМЦазной активностей принято количество фермента, вызывающее образование 1 мкмоль ксилозы или глюкозы за 1 мин реакции при указанных выше условиях. Разжижающую эндоглюканазную активность определяли вискозиметрически по методу Клесова с соевыми [2].

Содержание белка в препаратах ферментов и элюатах определяли по поглощению при 280 нм.

#### РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

Полученные нами результаты гельхроматографии эндоглюканазы *P. betulinus* ИБК-191 (рис. 1) и ксиланазы и КМЦазы *S. unicolor* 062 (рис. 2) свидетельствуют о том, что Ultragel AcA 34 обеспечивает отделение высокомолекулярных белков и пигментов от исследуемых ферментов. Удельная

активность эндоглюканазы *P. betulinus* ИБК-191 в фракции № 17 составила 7,2 ед/ $E_{280}$ , что в 23 раза превышало удельную активность фермента в культуральной жидкости. Для ксиланазы и КМЦазы *S. unicolor* 062 достигнута, соответственно, 14- и 19-кратная степень очистки ферментов.

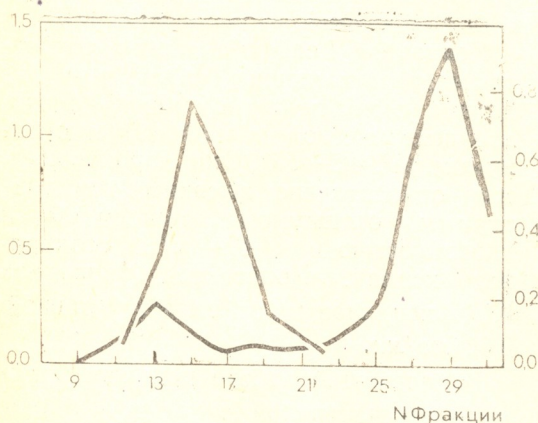


Рис. 1. Гельхроматография эндоглюканазы *P. betulinus* ИБК-191 на колонке с Ultragel АлА34: 1 — белок,  $E_{280}$ ; 2 — активность эндоглюканазы, ед/мл

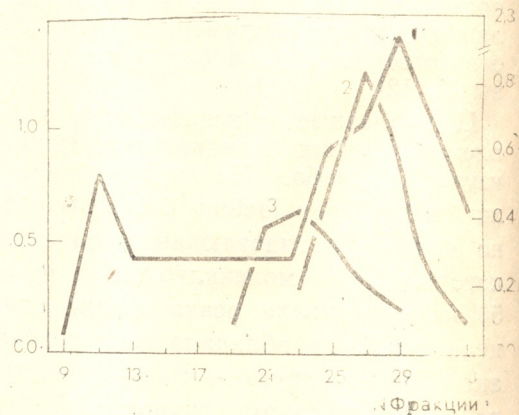


Рис. 2. Гельхроматография целлюлазы и ксиланазы *S. unicolor* 062 на колонке с Ultragel АлА34: 1 — белок,  $E_{280}$ ; 2 — ксиланаза, ед/мл; 3 — КМЦаза, ед/мл

В настоящей работе исследованы только основные характеристики ферментов, необходимые для их технологического использования с целью гидролиза растительных полисахаридов. Эндоглюканаза *P. betulinus* ИБК-191 и КМЦаза *S. unicolor* 062 проявляют максимум активности при pH 4, тогда как ксиланаза *S. unicolor* 062 — при pH 5. Однако все три фермента сохраняют высокую активность в пределах pH реакционной смеси от 4 до 5. Полученные значения pH-оптимумов близки к таковым для двух целлюлаз (оптимумы pH-активности 3,7 и 4,2) *Stereum sanguinolentum* [6] и ксиланазы (оптимум pH 4.5—5.0) *Lentinula edodes* [11]. При снижении pH смеси до 3 КМЦазная активность *S. unicolor* 062 уменьшалась лишь на 20%, тогда как активность ксиланазы — на 66%. Эндоглюканазная активность *P. betulinus* ИБК-191 при этом же значении pH уменьшалась в

твности, то только ксиланаза *S. unicolor* 062 гидролизовала субстрат относительно высокой скоростью при pH 7—8 реакционной смеси, тогда как КМЦазная активность снижалась, по сравнению с оптимумом, примерно в два раза. Следовательно, в условиях (pH 7), когда рост самого продуцента — *S. unicolor* 062 — происходит с наибольшей скоростью, гидролиз целлюлозы растительных субстратов, в присутствии которых культивируется базидиомицет, происходит в замедленном темпе.

Продуценты исследуемых ферментов — *Piptoporus betulinus* ИБК-327 и *Cerrena unicolor* 062 — являются мезофильными организмами, оптимум роста которых находится при температурах 26—28°. Тем не менее, ксиланаза *Cerrena unicolor* 062 проявляла максимальную активность при температуре 50°, а целлюлазы обоих базидиомицетов — при 60°C. Таким же

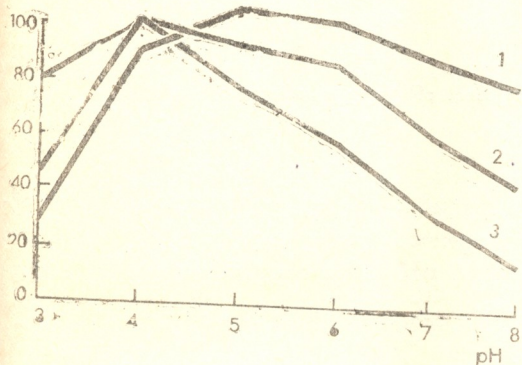


Рис. 3. Активность ксиланазы (1), КМЦазы (2) *S. unicolor* 062 и эндоглюканазы (3) *P. betulinus* в зависимости от pH реакционной смеси

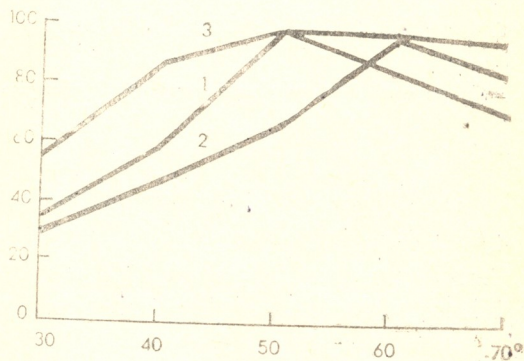


Рис. 4. Активность ксиланазы (1), КМЦазы (2) *S. unicolor* 062 и эндоглюканазы (3) *P. betulinus* в зависимости от температуры инкубирования реакционной смеси

два раза. Надо отметить, что выявленное снижение активности фермента не является результатом его инактивации, так как во время инкубации эндоглюканазы при pH 3 в течение 3 ч при 30° или в течение 24 ч при 5°C активность фермента снижалась лишь на 11—12% от исходной. В то же время при повышенных значениях pH реакционной смеси эндоглюканаза *P. betulinus* ИБК-191, как и других ферментов, проявляла высокую pH-стабильность. Что касается их ак-

высоким температурным оптимумом характеризовалась ксиланаза *L. edodes* [11]. Эндоглюканаза *P. betulinus* ИБК-191 проявляла и сравнительно высокую термостабильность — период ее полуинактивации при 60°C составил 210 мин.

Таким образом, выделенные и частично очищенные нами препараты целлюлазы и ксиланазы высших базидиомицетов могут быть использованы для осахаривания полисахаридов растительных субстратов.

1. Зарудная Г. И. Микол. и фитопатол., 4, 1970, 464—468.
2. Клесов А. А. Проблемы биоконверсии растительного сырья. М., «Наука», 1986, 93—136.
3. Клесов А. А., Рабинович М. Л., Синицин А. П. Биоорг. химия, 6, 1980, 1225—1242.
4. Bailey P. J., Liese W., Roech R. Biochim. Biophys. Acta, 185, 381—391, 1969.
5. Elisashvili V. I., Begashvili M. G., Kachlishvili E. T. Bioconversion of Plant Raw Materials by Microorganisms, Pushchino, 1989, 125—134.
6. Eriksson K. E., Pettersson B. Arch. Biochem. Biophys., 124, 142—148, 1968.
7. Evans C. S., Palmer J. M. Appl. Biochem. Biotechnol., 9, 353—354, 1984.
8. Ghose T. Pure Appl. Chem., 59, 253—268, 1987.
9. Kanda T., Wakabayashi K., Nisizawa K. J. Biochem., 79, 977—988, 1976a.
10. Kanda T., Wakabayashi K., Nisizawa K. J. Biochem., 79, 989—995, 1976b.
11. Mishra C., Forrester J. T., Brian D. Appl. Microbiol. Biotechnol., 33, 226—232, 1990.
12. Wong K. K. Y., Tan L. V. L., Sandler J. N. Microbiol. Rev., 52, 305—317, 1988.

PIPTOPORUS BETULINUS IBK-327-სა და CERRENA UNICOLOR 062  
ცელულაზისა და ხსილანაზის ნაწილობრივ გაწმენდილი  
კრეპარატების ზოგიერთი თვისებები

ნ. კოხრეიძე, ვ. ელისაშვილი, გ. კვესიტაძე

საქართველოს მეცნიერებათა აკადემიის მცენარეთა ბიოქიმიის ინსტიტუტი, თბილისი

რეზიუმე

მიღებულია და ნაწილობრივ გაწმენდილია უმალესი ბაზიდიალური სოკოების *Cerrena unicolor* 062 და *Piptoporus betulinus* IBK R-327 ქსილანაზა და ცე-

ლულაზა. შესწავლილია ფერმენტების აქტიურობა და სტაბილურობა სარეაქციო არის pH-სა და ინკუბირების ტემპერატურისაგან დამოკიდებულებით.

SOME PROPERTIES OF PARTIALLY PURIFIED CELLULASE AND  
XYLANASE FROM PIPTOPORUS BETULINUS IBK-327  
AND CERRENA UNICOLOR 062

N. KOKHREIDZE, V. ELISASHVILI, G. KVESITADZE

Institute of Plant Biochemistry Georgian Academy  
of Sciences, Tbilisi

Summary

Xylanase and cellulase from the cultural liquids of basidial fungi *Cerrena unicolor* 062 and *Piptoporus betulinus* IBK-327 have been isolated and partially purified.

The activity and stability of the enzymes depending on pH and temperature of reactional mixture have been studied.

УДК 547.962.02 : 577.112.5

БИОХИМИЯ

## ИССЛЕДОВАНИЕ АКТИНСВЯЗЫВАЮЩЕГО ДОМЕНА $\alpha$ -АКТИНИНА

С. О. Симонишвили, К. Ш. Куридзе, М. Ш. Симонидзе,  
Ф. О. Шрайбман, М. М. Заалишвили

*Институт молекулярной биологии и биологической физики АН Грузии, Тбилиси*

Поступила в редакцию 24.05.91

Изучена структурная организация актинсвязывающего домена (30 кДа)  $\alpha$ -актина. Показано, что ограниченный гидролиз актинсвязывающего домена химотрипсином приводит к образованию фрагментов 28, 25, 20 и 15 кДа. Все фрагменты взаимодействуют с Ф-актином и в ходе гидролиза, за исключением 15 кДа, подвергаются расщеплению. Предполагается, что фрагмент 15 кДа является С-концевой частью N-домена.

Самые разнообразные формы движения живых организмов обеспечиваются единым механизмом сокращения, в основе которого лежит взаимодействие главных белков актина и миозина. Открытие новых белков, входящих в состав сократительной системы, делает необходимым проведение детального исследования актомиозиновой системы в присутствии этих белков и в связи с этим изучение их структурно-функциональных свойств. Одним из таких белков является  $\alpha$ -актинин-актинсвязывающий белок, который обнаружен в мышечных тканях, в местах, где актин прикрепляется к

различным структурам [10]. Он является димером, возможно гомодимером, с молекулярной массой антипараллельно ориентированных субъединиц 94—103 кДа, [4, 13].

Результаты последних лет, полученные нами и зарубежными коллегами, показывают, что  $\alpha$ -актинины из различных тканей имеют доменную структуру и центр связывания  $\alpha$ -актина с актином расположен в N-концевом домене [4].

Целью настоящей работы является структурное исследование N-концевого домена  $\alpha$ -актина: выделение и изучение актинсвязывающего центра.

### МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

**Получение белков.** Гомогенный препарат  $\alpha$ -актина получали из мышечного фарша кролика по методике Пинтер, а актин по методике Слудич [12, 16].

**Выделение N-домена и фрагмента 15 кДа [2].** 150 мг  $\alpha$ -актина ( $C=2.5$  мг/мл) в буфере, 20 мМ трис/CH<sub>3</sub>COOH, 5 мМ  $\beta$ -МЭ, 0,15 М NaCl, pH 7,5 (буфер а) инкубировали с трипсином (фермент-субстратное соотношение 1:25) при температуре 37°C; по истечении 1 ч реакцию ингибировали

соевым ингибитором трипсина. Гидролизат разделяли на колонке (2,6×90 см) с TSK WH-55F гель, уравновешенный буфером а. Элюцию проводили со скоростью 20 мл/ч; собирали фракции по 8 мл и анализировали электрофорезом в ПААГ (рис. 1). Выделили две фракции: фракция I содержала гомогенный препарат N-домена  $\alpha$ -актина (30 кДа), а другая — смесь фрагментов 30 и 15 кДа (рис. 1а). Фракцию, содержащую смесь фрагментов 30 и 15 кДа, рехромато-

графировали на колонке (2,6×90 см) с TSK WH-50F гелем (рис. 1б).

**Гидролиз N-домена.** Протеолиз N-домена химотрипсином проводили в буфере 0,15 М  $\text{KH}_2\text{PO}_4$ , 5 мМ  $\beta$ -МЭ, 0,01%  $\text{NaN}_3$ , pH 7,2 (буфер б) при температуре 37°C (фермент-субстратное соотношение 1:20). Концентрация N-домена во всех случаях была 1,5 мг/мл. Протеолиз термолизинном проводили в буфере б с добавлением 2 мМ

**Взаимодействие Ф-актина с фрагментами.** После подбора условий гидролиза, для получения фрагментов N-домена, реакцию проводили в течение двух часов, при температуре 37°C и соотношении фермент-субстрата 1:20. Полученный гидролизат без предварительного ингибирования действия фермента добавляли к Г-актину и последний переводили в Ф-форму. Смесь оставляли при комнатной температуре в течение 1 ч и затем

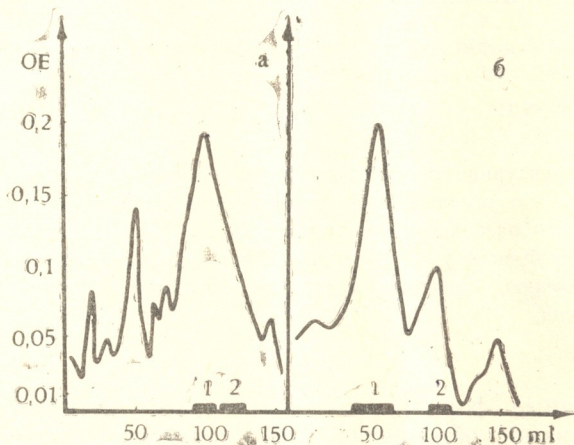


Рис. 1. Выделение фрагмента T-9 из общего гидролизата  $\alpha$ -актинина: а — профиль хроматографии на WH-55 (1 — фрагмент T-8; 2 — смесь фрагментов T-9 и T-8); б — профиль рехроматографии на WH-50 (1 — фрагмент T-8; 2 — фрагмент T-9)

$\text{CaCl}_2$ . Фермент-субстратное соотношение 1:20, температура 37°C. Реакцию останавливали добавлением додецилсульфата натрия до конечной концентрации 2%.

центрифугировали при 100 000 g; осадок отделяли от супернатанта, растворяли в форезном буфере и анализировали в ПААГ, в присутствии додецилсульфата натрия.

## РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

Сократительные системы мышечных и немышечных клеток содержат большое число разнообразных минорных белков, взаимодействие которых с миозином и актином вызывает особый интерес. Известно, что актинсвязывающие белки, к их числу относятся и  $\alpha$ -актинин, по-разному взаимодействуют с актином; они связываются с мономерами актина (профилин и др.) [14], с медленно растущим концом филамента (проакументин и др.) [15], с быстрорастущим концом филамента (гелзолин и др.) [9], с бо-

ковой поверхностью филамента (тропомиозин и др.) [9] и с двумя филаментами, образуя поперечные сшивки между ними ( $\alpha$ -актинин и др.) [9]. Кроме этого, взаимодействие некоторых актинсвязывающих белков с актином регулируется ионами кальция.

Особый интерес вызывают белки, которые сшивают актиновые филаменты между собой и тем самым могут подействовать на все стадии полимеризации актина. Как отмечалось выше, одним из таких белков является  $\alpha$ -актинин, выделенный и охарак-





теризованный из различных сократительных систем [6, 11]. Эти изоформы  $\alpha$ -актинина не отличаются между собой по структурной организации, но между ними существует функциональное отличие, которое заключается в том, что связывание немышечных  $\alpha$ -актининов с актином является  $\text{Ca}^{2+}$ -чувствительным, тогда как взаимодействие мышечных  $\alpha$ -актининов с актином не зависит от присутствия ионов кальция.

Как известно, актинсвязывающий центр  $\alpha$ -актинина расположен на так называемом N-концевом домене, который высвобождается в процессе нативного гидролиза  $\alpha$ -актинина разными ферментами и является мономерным и глобулярным [2, 3]. В данной работе мы задались целью локализо-

вать мотрипсина и термоллизина. Анализ гидролизатов электрофорезом в ПААФ в присутствии ДСН, показали, что при химотрипсинолизе N-домена наблюдается образование сравнительно устойчивых фрагментов с молекулярными массами 28, 25, 20 и 15 кДа. Гидролиз N-домена термоллизином протекает медленнее, в основном образуется фрагмент с молекулярной массой 28 кДа и следы низкомолекулярных фрагментов (рис. 2). При исследовании состава гидролизатов химотрипсинолиза в зависимости от времени оказалось, что фрагмент с массой 15 кДа сравнительно устойчив и накапливается в гидролизате. Таким образом, фрагмент с минимальной молекулярной массой, который образуется в данных условиях

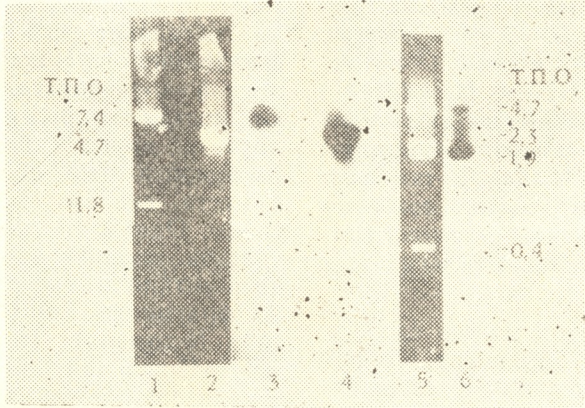


Рис. 2. Кинетика образования фрагментов N-домена  $\alpha$ -актинина: а — протеолиз N-домена химотрипсином, б — термоллизином (цифры указанные под фореграммой соответствуют времени гидролиза в минутах)

вать актинсвязывающий центр  $\alpha$ -актинина на N-концевом домене — определить ту минимальную длину полипептидной цепи  $\alpha$ -актинина, которая сохраняет способность белка взаимодействовать с актином.

Для изучения активного центра белков применяются различные подходы: при исследовании ферментов, задача облегчается, если удастся подобрать заменитель субстрата, а для белков, не являющихся ферментами, подход индивидуален. Для решения поставленной задачи мы выбрали метод ограниченного гидролиза и решили провести пролонгированный гидролиз нативного N-домена с применением протеолитических ферментов хи-

при пролонгированном гидролизе N-концевого домена, является фрагментом с массой 15 кДа. Из наших ранее опубликованных работ [5] известно, что фрагмент с такой же молекулярной массой образуется и при трипсинолизе нативного  $\alpha$ -актинина (Т-9), и он является С-концевой частью N-домена. Мы предположили, что эти два фрагмента являются идентичными и далее, по ранее разработанным тестам [4], исследовали взаимодействие фрагментов химотриптического гидролиза N-домена и фрагмента Т-9 с Ф-актином. Результаты эксперимента, приведенные на рис. 3, показывают, что с Ф-актином осаждается Т-9 и все фрагменты

N-концевого домена. Из этих данных следует, что фрагмент 15 кДа входит в состав фрагментов 28, 25, 20 кДа и что расщеплению подвергается N-концевая часть N-домена.

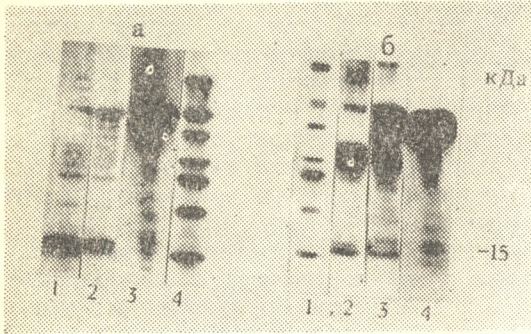


Рис. 3. Электрофореграмма взаимодействия фрагмента Т-9 с актином (а); 1 - фрагмент Т-9; 2 — супернатант комплекса Т-9 с актином; 3—осадок комплекса Т-9 с актином; 4—стандартная смесь (66, 45, 36, 29, 24, 20, 14 кДа); б—электрофореграмма взаимодействия гидролизата N-домена  $\alpha$ -актинина с актином: 1—стандартная смесь (66, 45, 36, 29, 20, 14 кДа); 2—гидролизат N-домена; 3—супернатант комплекса фрагментов N-домена с актином; 4—осадок комплекса фрагментов N-домена с актином

Из этих результатов можно сделать предположение, что фрагмент, образованный при трипсинолизе нативного  $\alpha$ -актинина Т-9, и фрагмент 15 кДа, который образуется при гидро-

лизе N-концевого домена  $\alpha$ -актинина химотрипсином, является одним и тем же фрагментом, и что актинсвязывающий центр  $\alpha$ -актинина с актином расположен в С-концевой части N-домена.

В настоящее время известны первичные структуры  $\alpha$ -актининов, выделенных из различных объектов [7, 8] и N-концевого домена  $\alpha$ -актинина кролика [1], в состав которого входит фрагмент Т-9 (15 кДа) [5]. Анализ первичных структур N-доменов  $\alpha$ -актининовых изоформ показывает, что самая большая гомология в аминокислотных последовательностях наблюдается у  $\alpha$ -актининов кролика и цыпленка. Так например, гомология аминокислотных последовательностей между участками Глу<sub>24</sub>-Глу<sub>286</sub>  $\alpha$ -актинина из мышцы кролика и Глу<sub>21</sub>-Глу<sub>286</sub>  $\alpha$ -актинина из мышцы цыпленка составляет 93%. У всех изоформ  $\alpha$ -актинина в N-концевой аминокислотной последовательности существуют места, которыми они отличаются друг от друга (крайние N-концевые аминокислотные последовательности) и места, где аминокислоты консервативны. Одним из таких мест является участок полипептидной цепи N-домена  $\alpha$ -актинина, где расположено начало фрагмента Т-9 (Фен<sub>147</sub>) (~ середина N-домена). Таким образом, актинсвязывающий центр  $\alpha$ -актинина локализован в той части полипептидной цепи N-домена, где расположены консервативные аминокислоты.

## ЛИТЕРАТУРА

1. Джохадзе Г. Г., Надирашвили Н. Ш., Олейников А. В., Алахов Ю. Б., Заалишвили М. М. Тез. Всес. симп. «Химия белков», Тбилиси, 1990, 17.
2. Куридзе К. Ш., Веняминов С. Ю., Симонидзе М. Ш., Надирашвили Н. Ш., Заалишвили М. М. Биохимия, 53, 6, 899—904, 1988.
3. Куридзе К. Ш., Симонидзе М. Ш., Надирашвили К. Ш., Заалишвили М. М. Биоорганическая химия, II, 316—320, 1985.
4. Симонидзе М. Ш., Куридзе К. Ш., Надирашвили Н. Ш., Заалишвили М. М. Биохимия, 54, 10, 1740—1744, 1989.
5. Симонидзе М. Ш., Куридзе К. Ш., Надирашвили Н. Ш., Заалишвили М. М. Биоорганическая химия, II, 1493—1496, 1985.
6. Burridge K., Ferrarisco J. R., Nature, 294, 565—567, 1981.
7. Blanchard A., Onanian V., Critchley O. J. Muscle Res. & Cell Motility, 10, 280—289, 1989.
8. Fyrberg E., Kelly M., Rall E., Fyrberg Ch., Reedy M. J. Cell Biol., 110, 1999—2011, 1990.
9. Korn E. D. Physiological Rev., 62, 672—737, 1982.
10. Lazarides L., Burridge K. Cell, 6, 3, 289—293, 1975.
11. Rosenberg S., Stratcher A., Burridge K. J. Biol. Chem., 256, 12986—12991, 1981.

12. Pinter K., Jancso A., Rizo E. N. A. Acta Biochem. et Biophys. Acad. Sci. Hung., 15, 217—222, 1980.

13. Podlyubnaia Z. A., Tskhovrebova L. A., Zaalishvili M. M., Stefanenko G. A. J. Mol. Biol., 82, 357—359, 1975.

14. Schliwa M. Cell, 25, 587—590, 1981.

15. Southwick F. S., Hartwig J. U. Nature, 297, 303—307, 1982.

16. Spudich J. A., Watt S. T. Biol. Chem., 246, 4866—4871, 1971.

17. Schook W., Ores C., Puszkin S. Biochem. J., 175, 63—72, 1978.

## α-აქტინინის აქტინთან დამაკავშირებელი დომენის ბამოკვლევა

ს. სიმონიშვილი, კ. შრაიბმ, მ. სიმონიძე, თ. შრაიზმანი, მ. ჯაალიშვილი

საქართველოს მეცნიერებათა აკადემიის მოლეკულური ბიოლოგიისა და ბიოლოგიური ფიზიკის ინსტიტუტი, თბილისი

### რ ე ზ ი უ მ ე

შესწავლილია α-აქტინინის აქტინშემაკავშირებელი დომენის სტრუქტურული ორგანიზაცია. ნაჩვენებია, რომ აქტინშემაკავშირებელი დომენი (30 კდა) ქიმოტრიფსინით შეზღუდული ჰიდროლიზის დროს იძლევა ფრაგმენტებს: 28, 25, 20

და 15 კდა, რომელთა შორის მდგრადია 15 კდა. ყველა ეს ფრაგმენტი ინარჩუნებს F-აქტინთან შეკავშირების უნარს. გამოთქმულია მოსაზრება, რომ ფრაგმენტი 15 კდა წარმოადგენს N-დომენის C-ბოლოს.

## INVESTIGATION OF THE ACTIN BINDING DOMAIN OF THE α-ACTININ

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

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

### Summary

Structural organization of the actin binding domain (30 kDa) of the α-actinin has been studied. Chymotryptic limited hydrolysis of this domain lead to the formation of fragments with molecular weights 28, 25, 20 and 15 kDa. Each of

them interact with the F-actin and during the hydrolysis, except the 15 kDa, are subject to the chymotryptic cleavage. It may be supposed that the fragment with molecular weight of 15 kDa is the C-terminal part of the N-domain.

УДК 577.1 581.132.1

ФИЗИОЛОГИЯ РАСТЕНИЙ

## ПОСЛЕДЕЙСТВИЕ ФУЗИКОКЦИНА НА ФУНКЦИОНИРОВАНИЕ ЭЛЕКТРОН-ТРАНСПОРТНОЙ ЦЕПИ В ЛИСТЬЯХ ЛИМОНА

Т. Ш. Адеишвили, Е. А. Кошкин, Д. Д. Кяландадзе, Г. С. Каличава,  
Н. Г. Кухалейшвили, Д. Г. Цурцумия

*Научный центр сельскохозяйственной биотехнологии, Тбилиси*

С помощью ЭПР-спектроскопии изучали функционирование электрон-транспортной цепи интактного листа лимона, обработанного фузикокином в процессе вегетативного роста. В листьях лимонов, обработанных фузикокином, наблюдались более интенсивные спектры ЭПР I; кроме того, в исследуемых листьях концентрация хлорофиллов была выше по сравнению с контрольными листьями. По-видимому, количество электрон-транспортных цепей в листьях, обработанных фузикокином, преобладает по сравнению с контролем.

В сельском хозяйстве для увеличения продуктивности интенсивно применяют регуляторы роста и их синтетические аналоги. Основные функции регуляторов роста связаны с увеличением биомассы растений, регулированием и стимулированием физиологических процессов в высших растениях, вместе с тем с их помощью растения приобретают способность лучше бороться с неблагоприятными факторами. Одним из таких регуляторов роста является фузикокин, выделенный из мицелий гриба *Fusicoccum amygdali*. Спектр действия фузикокина достаточно широк: влияние на прорастание семян, увеличение мас-

сы корнеплодов, повышение урожайности, влияние на ионный транспорт через плазматическую мембрану и т. д. В то же время в литературе не имеются сведения о влиянии фузикокина на первичные процессы фотосинтеза высших растений. Как известно, усиление процесса фотосинтеза приводит к улучшению урожайности культуры.

Цель нашего исследования — проверить функциональное состояние электрон-транспортной цепи в листьях лимона, обработанных фузикокином в процессе его вегетативного роста и определение концентрации хлорофиллов в таких листьях.

### МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ

Объектом исследования служили пятимесячные проростки лимона сорта «Новогрузинский». За месяц до исследования растения опрыскивали раствором фузикокина ( $1 \cdot 10^{-7}$  М), который готовили следующим образом: вначале растворяли фузикокин в небольшом количестве спирта, а затем в 0,1-ном растворе твина-20. Фузикокин был получен в лаборатории регуляторов роста ВНИИСБ по методике, описанной в работе [3].

Спектры ЭПР регистрировали на

спектрометре Tomson CSFTSN 254 3-сантиметрового диапазона. Регистрация спектров проводилась при комнатной температуре. Условия записи спектров были следующие: центральное поле — 3350 Гс, амплитуда модуляции — 4 Гс, мощность СВЧ — 10 мВ, постоянная времени — 0,5 с. В качестве эталона сравнения использовали ионы марганца в кристаллической решетке MgO.

Пластинку листа лимона определенного размера помещали в специ-

ально изготовленный держатель и располагали в резонаторе перпендикулярно к действующему потоку света. После пятиминутной инкубации в темноте образец освещали светом  $\lambda \sim 707$  нм и белым светом. Рабочая интенсивность действующего света  $1,5 \cdot 10^{15}$  квант  $\cdot$  см $^{-2}$   $\cdot$  с $^{-1}$ .

Для извлечения пигментов из листьев использовали 80%-ный раствор ацетона. Экстракцию проводили в затемненном помещении из-за быстрого выцветания на свету. Для избежания изомеризации пигментов экстракцию проводили как можно быстрее. При растирании листа в механическом го-

могенизаторе, для нейтрализации кислот клеточного сока и предотвращения феофинизации пигментов, добавляли небольшое количество  $MgCO_3$ .

Концентрацию хлорофиллов в листе лимона определяли спектрофотометрически по Арнону [1]. Количественное определение хлорофиллов связано со способностью пигментов поглощать свет определенной длины волн. Оптическую плотность растворов пигментов измеряли на спектрофотометре Pervin Elmer 402, после чего концентрацию хлорофиллов рассчитывали по формуле Мак-Кинни.

## РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

В хлоропластах и в листьях в обычных условиях наблюдается два типа

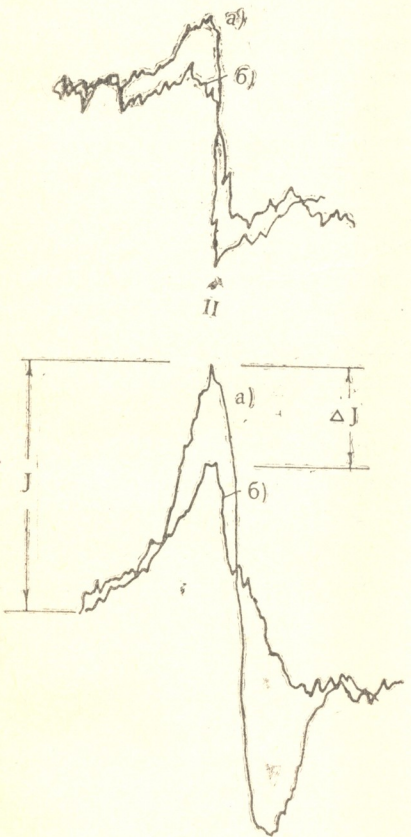


Рис. 1. Сигнал ЭПР I в интактном листе лимона при хроматических переходах: а—при включении света  $\lambda \sim 707$  нм; б—на фоне света  $\lambda \sim 707$  нм включали белый свет; 1—лист лимона, обработанного фузикокином в процессе его вегетативного роста; 2—контрольный лист

фотоиндуцированных сигналов— ЭПР I и ЭПР II. Сигнал ЭПР I, возникающий при освещении светом  $\lambda \sim 680$ —760 нм, представляет собой синглет с  $g=2,0023$ ,  $\Delta H=7,5$  Гс. При интенсивности  $1,5 \cdot 10^{15}$  квант/см $^2$   $\cdot$  с сигнал ЭПР I имеет максимальную величину при  $\lambda \sim 700$  нм. В настоящее время общепризнано, что за возникающий сигнал ЭПР I ответственна окисленная форма реакционного центра фотосистемы I—пигмент  $P700^+$  [2]. За функциональным состоянием электрон-транспортной цепи в листе лимона следили по окислительно-восстановительным превращениям пигмента P700, стационарная концентрация которого определяется соотношением между скоростью окисления пигмента за счет фотосистемы I и скоростью его восстановления за счет фотосистемы II. При включении света  $\lambda \sim 707$  нм сигнал ЭПР I достигает максимального значения. Затем на фоне света  $\lambda \sim 707$  нм включали белый свет, что приводило к уменьшению величины сигнала ЭПР I на некоторую величину ( $\Delta U$ )—из-за возбуждения фотосистемы II и появления потока электронов к пигменту  $P700^+$ , что, в свою очередь, восстанавливало сигнал [4]. Таким образом, используя хроматические переходы, мы изучали функционирование электрон-транспортной цепи в интактных листьях лимона, обработанного фузикокином за месяц до исследования.

Проведенное исследование показало, что ЭПР-спектры интактных листьев лимона, обработанных фузикокином, отличны от контрольных.

3493330  
3030000000

На рис. 1 даны спектры ЭПР исследуемого и контрольного листьев. Из рисунка видно, что величина сигнала ЭПР I исследуемого листа больше, чем в контроле. Кроме того, изменение величины сигнала ЭПР I при включении белого света на фоне света  $\lambda \sim 707$  нм больше в листе, обработанном фузикоцином. Полученные данные могут свидетельствовать о том, что в листе лимона, обработанного фузикоцином, происходит более

спортных цепей в листьях, обработанных фузикоцином.

Количество электрон-транспортных цепей непосредственно связано с концентрацией хлорофиллов, поскольку эти пигменты являются неотъемлемыми составляющими электрон-транспортной цепи. Поэтому мы провели исследование по определению концентрации хлорофиллов в листьях лимонов, как обработанных фузикоцином, так и в контрольных. Из табл. 1 видно, что концентрация хлорофиллов в исследуемых листьях превышает контрольные значения. Таким образом, более интенсивное функционирование электрон-транспортных цепей в исследуемых листьях с повышенным содержанием хлорофиллов в них, по-видимому, обусловлено большим количеством электрон-транспортных цепей в листьях, обработанных фузикоцином.

В данной работе не проводится анализ действия фузикоцина непосредственно на функционирование электрон-транспортной цепи, а изучается последствие фузикоцина на функционирование физиологического процесса. Такое исследование дает возможность использовать фузикоцин для практических целей: желателно опрыскивать проростки лимона раствором фузикоцина, тем более, что этот регулятор зарекомендовал себя как вещество, способное повышать морозоустойчивость у высших растений.

Т а б л и ц а 1

Концентрации хлорофиллов ( $C_a$ ,  $C_b$ ,  $C_{a+b}$ ) в мг/л в листьях лимонов, обработанных фузикоцином (I), и контрольных (II)

I			II		
$C_a$	$C_b$	$C_{a+b}$	$C_a$	$C_b$	$C_{a+b}$
9,6	1,7	11,3	5,8	0,9	6,7
10,3	1,9	12,2	7,8	0,9	8,7
9,5	2,0	11,5	6,5	1,4	7,9
10,2	2,7	12,9	5,8	2,5	8,3
15,9	3,3	19,2	7,6	2,2	9,8
15,9	3,6	19,5	5,3	1,8	7,1
12,4	2,8	15,2	6,1	1,6	7,7
14,7	3,1	17,8	6,4	2,0	8,4
15,3	3,2	18,5	7,1	2,3	9,4
13,8	2,8	16,6	5,6	1,2	6,8
16,0	3,4	19,4	7,0	2,4	9,4
15,8	3,2	19,0	6,3	1,8	8,1
13,6	2,6	16,2	5,7	2,1	7,8
15,1	3,0	18,1	6,2	2,6	8,8
14,5	2,3	16,8	6,6	2,7	9,3

интенсивное функционирование электрон-транспортных цепей. Наблюдаемый эффект может быть обусловлен большим количеством электрон-тран-

ЛИТЕРАТУРА

1. Гавриленко В. Ф., Ладыгина М. Е., Хандобина Л. М. Большой практикум по физиологии растений, «Высшая школа», М., 1975.
2. Гольдфельд М. Г. Биофизика, 27, 6, 954—962, 1982.
3. Краснопольская Л. М., Коренева В. М., Муромцев Г. С. Микология и фитопатология, 18, I, 48—54, 1984.
4. Тихонов А., Рууге Э. К., Субчински В. К., Блюменфельд Л. А. Физиология растений, 22, I, 5—13, 1975.

# ფუზიკოკცინის გავლენა ლიმონის ფოთლების ელექტრო-ტრანსპორტული ჯაჭვის ფუნქციონირებაზე

თ. ადეიშვილი, ი. კოშკინი, დ. კალანდაძე, გ. კალიჩავა, ნ. კუხალიშვილი,  
დ. წურჭუმია

სოფლის მეურნეობის ბიოტექნოლოგიის სამეცნიერო ცენტრი, თბილისი

## რ ე ზ ი მ ე

შევისწავლეთ ვეგეტაციური ზრდის პროცესში ფუზიკოკცინით დამუშავებული ლიმონის ინტაქტური ფოთლის ელექტრო-ტრანსპორტული ჯაჭვის ფუნქციონირება. ფუზიკოკცინით დამუშავებულ ლიმონის ფოთლებში აღმოჩენილ იქნა გაცილებით ინტენსიური სპექტრები.

ქლოროფილის კონცენტრაცია გაცილებით მაღალი აღმოჩნდა გამოსაკვლევ ფოთლებში კონტროლთან შედარებით.

უნდა ვიფიქროთ, რომ ელექტრო-ტრანსპორტული ჯაჭვის რაოდენობა გაცილებით მეტია ფუზიკოკცინით დამუშავებულ ფოთლებში, კონტროლთან შედარებით.

## THE AFTEREFFECT OF THE FUSICOCCIN ON THE FUNCTIONING OF ELECTRON TRANSPORTING CHAIN IN LEMON LEAVES

T. ADEISHVILI, E. KOSHKIN, D. KALANDADZE, G. KALICHAVA,  
N. KUKHALEISHVILI, D. TSURTSUMIA

Scientific Center of Agricultural Biotechnology, Tbilisi

## S u m m a r y

Using EPR-spectroscopy method we studied the functioning of electron transporting chain in lemon leaves when treated in growth process with fusicoccin.

We discovered more intensive EPR-1 spectra in lemon leaves treated by fusicoccin. We watched more light chlorofill

concentration in studied leaves in comparison with the control ones.

As it appears the quantity of electron transporting chains in fusicoccin treated leaves is higher when compared with the control ones.

УДК 619:57876

ВИРУСОЛОГИЯ

## БАКТЕРИАЛЬНЫЕ ИНДУКТОРЫ ОБРАЗОВАНИЯ ИНТЕРФЕРОНА

И. И. Георгадзе, И. И. Сесиашвили, Т. Г. Чанишвили,  
М. З. Минашвили

НПО «БАКТЕРИОФАГ» им. Элиава, Тбилиси  
Тбилисский научно-исследовательский институт вакцин и сывороток

Поступила 02.04.91

Рассматриваются литературные источники, касающиеся продукции интерферона *in vivo* и *in vitro* при использовании невирусных природных индукторов и их продуктов. Представлены сведения по применению этих индукторов с использованием различных продуцентов интерферона. При этом приведены данные, демонстрирующие их сходство и отличие в процессе интерферонообразования и важнейшие биологические свойства.

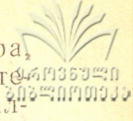
В процессе изучения феномена интерференции вирусов в 1957 г. [64] было обнаружено вещество, блокирующее синтез вирусной нуклеиновой кислоты, впоследствии названное интерфероном [120]. Интерферон в организме человека и позвоночных продуцируется не каким-либо специальным органом, а всеми клетками организма, из которых наиболее активными являются клетки белой крови [2]. Способность клеток вырабатывать интерферон является генетическим свойством и для индукции этого вещества необходимы индукторы, которые, взаимодействуя с клетками, стимулируют образование интерферона путем дерепрессии генома хозяина [38, 2]. Вопрос, каким же образом контролируется продукция интерферона и как регулируются гены интерферона, стал более понятным с установлением и изучением антивирусного и противоопухолевых свойств интерферона [19, 128, 1, 130].

Пристальное внимание к изучению интерферона в значительной степени обусловило довольно быстрый прогресс в расшифровке его первичной структуры. Последнее решило проблему получения интерферона в большом количестве с помощью рекомбинант-

ной технологии и основательного понимания его биологической значимости [115, 108]. До настоящего времени концепция, касающаяся интерферона, подверглась большим изменениям. От противовирусного агента широкого спектра действия до клеточного регулятора, который сочетается в себе свойства и играет роль «лимфокина-хозяина», переносящего и усиливающего или регулирующего воздействие остальных лимфокинов на дифференциацию, рост и экспрессию антигенов клеток. Будучи полипептидом, интерферон определяется и как «местный гормон». При учете приведенного открываются новые перспективы в области терапии вирусных, неопластических и аутоиммунных заболеваний [42] и для исследований сложной сети клеточной регуляции в организме позвоночных.

Сложившееся мнение об образовании интерферона как о процессе, происходящем между клеткой хозяина и только вирусом, существовало и до работы Стинебринга В. Р., Ягнера И. С. [126], когда был обнаружен интерферон в сыворотке цыплят после внутривенного введения им культур коккобактерий — бруцелл инфекционного аборта крупного рогатого скота.





В дальнейшем многие исследователи продемонстрировали возможность получения интерферонов как *in vivo*, так и *in vitro* различными индукторами невирусного происхождения и доказали целесообразность деления индукторов на вирусные и невирусные [16]. Последние, в свою очередь, делятся на природные и синтетические. Среди невирусных индукторов особое место занимают индукторы природного происхождения, а именно бактерии, грибки и их продукты, фаги, риккетсии, хламидии [126, 136, 59, 15, 118, 43, 13, 7, 12, 8, 6, 17].

Следует отметить, что задолго до обнаружения интерферогенных свойств у бактерий и полисахаридов была известна их противовирусная активность. Оказалось, что введение мышам негемолитического стрептококка в нос, за 3 суток до заражения вирусом мышинной пневмонии, ингибировало развитие вируса на 1—2 Ig<sub>10</sub>. Аналогичный эффект был достигнут при применении стрептококков, инактивированных прогреванием. Нейротоксическое действие вируса гриппа было ингибировано предварительным введением разных микробных субстанций. Был получен защитный эффект предварительным введением эндотоксина, выделенного из бактерий сальмонелл аборта лошадей при вирусной инфекции белых мышей, вызванной вирусом гриппа. Было показано защитное действие тифозной вакцины при экспериментальной вирусной инфекции белых мышей. Частичная защита зараженных вирусом экстремии мышей была достигнута внутрибрюшинным введением этим животным фильтрата из бактерий сальмонелл — возбудителей брюшного тифа мышей [48]. Отмеченные факты защиты часто объяснялись как феномен интерференции между бактериями, бактериальными продуктами и вирусами животных [60]. Однако одновременное введение бактерий вместе с вирусом не защищало животных. Это привело к мысли о выработке определенного вещества в ответ на введение бактерий. Механизм отмеченной защиты от инфекционного процесса при введении бактерий и их продуктов стал ясен [126, 137] после внутривенного введения цыплятам больших доз живых, вирулентных бактерий, бруцелл аборта крупного рогатого скота. Это вызвало появление в

их сыворотке вирусного ингибитора, неотличимого от интерферона. Бактериальный интерферон обнаруживался спустя 3 ч после введения этих бактерий и достигал максимума через 12 ч. Такой же ингибитор был получен в сыворотке мышей после введения им кишечной палочки, возбудителей брюшного тифа мышей, а также бактериального эндотоксина-полисахарида, полученного из кишечной палочки.

Значительное сходство в интерферонообразовании было определено между разными видами бактерий бруцелл мелкого рогатого скота и бруцелл аборта крупного рогатого скота при их введении мышам. Интерферон в сыворотке появлялся после 4 ч с максимумом на 8 ч, а инактивация бруцелл прогреванием или окислением лишала их интерферогенности [107, 31]. Однако не отмечалось стимулирования образования интерферона в тканевых культурах при использовании бруцелл как индукторов интерферона.

Согласно литературным данным, микробы разных видов способны в организме животных индуцировать процесс интерферонообразования [135, 3]. Так, возбудитель коклюша вызывал образование сывороточного интерферона у мышей [27, 114], но не вызывал образования интерферона в мышинных перитонеальных клетках *in vitro*. У цыплят в сыворотке обнаруживался интерферон при введении живых бактерий *Francisella tularensis*, *Listeria monocytogenes* [93, 94].

Грамотрицательные и грамположительные бактерии — стафилококки, стрептококки, диплококки, пневмококки, сальмонеллы, кишечная палочка давали высокие титры сывороточного интерферона *in vivo* и *in vitro* [55, 39]. Оказалось, что не только жизнеспособные, но и инактивированные бактериальные клетки могут быть индукторами интерферона. Так, бактерии кишечной палочки инактивированные обработкой при 56°C в течение 1 ч давали высокие титры крысиного сывороточного интерферона. Подобный эффект был достигнут и при внутривенном введении мышам бруцелл аборта крупного рогатого скота, инактивированного прогреванием или обработкой 0,1 NaOH с последующей нейтрализацией HCl.

Бактериальные продукты также оказались ингибиторами размножения вирусов. Внутривенное введение мышам токсина от возбудителей брюшного тифа мышей, за 24 ч до заражения их вирусом экстремели, значительно удлиняло среднюю продолжительность их жизни [126]. Эндотоксин, выделенный из кишечной палочки, индуцировал образование противовирусного интерферона в сыворотке белых мышей, спустя 2 часа после его введения. Больные менингитом, вызванным *Haemophilus influenzae*, в процессе лечения антибиотиками содержали в сыворотке крови высокие титры интерферона, индуцирование которого могло быть связано с разрушением бактериальной клетки антибиотиками и освобождением бактериального эндотоксина [104].

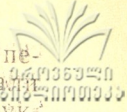
Бактериальный эндотоксин индуцировал образование сывороточного интерферона и у кроликов. Роговица кролика не реагировала на действие вируса болезни Ньюкасла, когда кроликам внутривенно вводили эндотоксин тифозных бактерий [110]. На модели кроликов, при герпетическом конъюнктивите, было продемонстрировано также защитное действие эндотоксина, выделенного из *Serratia marcescens*. Однако, исследуя продолжительность и степень защиты животных от вирусных инфекций эндотоксинами, выделенными из микробов различных групп, оказалось, что при сравнении с поли И:Ц, вирусом болезни Ньюкасла, статолон, эндотоксины обладали самой меньшей продолжительностью защиты — до 5 суток.

Известна интерферогенная активность таких продуктов бактериальной клетки, как пирогенал и прегеиозан [21]. Значительное ускорение и усиление продукции интерферона в организме животных и культуре ткани наблюдали также при применении бактериального эндотоксина, предварительно обработанного ультразвуком [45, 46]. После внутривенного введения белым мышам  $C_3H$  экстракта из штаммов бактерий разных видов (стафилококка золотистого, кишечной палочки *Aerobacter aerogenes*, *Proteus vulgaris*) отмечали образование интерферона, который обнаруживали в сыворотках крови в виде двух пиков от 3 ч и через 48 ч [111]. Эк-

тракт в дозе 125—350 мг/кг индуцировал 8—16 ед/мл интерферона, а в дозе 400—650 мг/кг — 64—128 ед/мл. В случаях перорального использования появление минимальных концентраций интерферона в сыворотке обнаружено только после применения больших доз экстракта бактерий. В культуре лимфоцитов из периферической крови человека *in vitro* бактериальные продукты дифтерин, туберкулин, столбнячный анатоксин индуцировали образование интерферона [121].

Интересен вопрос об активных началах, определяющих интерферогенные свойства бактериальной клетки и их продуктов, т. е. определение той части бактериальной клетки, которая является решающей для индукции интерферона [71]. По этому вопросу имеются разные мнения. Отдельно исследовали интерферониндуцирующую способность липидной и полисахаридной частей, липополисахарида, экстрагированного из бактерий сальмонелла — возбудителя брюшного тифа мышей, а также мутанты этих сальмонелл, недостаточные в определенных компонентах клеточной стенки [21]. Оказалось, что «О»-соматический антиген, 2-кетон-3-дезокситанат или другие полисахаридные компоненты не пригодны как интерферогены. Интерферогенная способность была связана с липидной частью микробной клетки. Исследования, проведенные с диким штаммом сальмонелла — возбудителя брюшного тифа мышей, содержащего эндотоксин (полный полисахаридный О-антиген), с мутантами клеток данного штамма, лишенного полисахаридных боковых цепей и содержащего 2-кетон-3-дезокситанат, а также липидами клеток, позволили сделать вывод, что все изученные объекты обладают одинаковой интерферогенной активностью [133]. При использовании же эндотоксина бруцелл было показано, что данный эндотоксин не является индуктором интерферона. Индукция интерферона происходила за счет фракции, связанной с оболочкой бактериальной клетки.

Интерферогенные свойства были выявлены у экстрактов бруцелл аборта крупного рогатого скота и палочек возбудителей инфлюэнции, которые по своей физико-химической харак-



теристике были похожи на эндотоксины [37, 105]. Исследовали и дикие штаммы кишечной палочки и ее мутанты, дефективные в определенных местах клеточной стенки, оказавшиеся индукторами интерферона. Далее экстракт разрушенных клеток бруцелл аборта крупного рогатого скота содержал фактор, индуцирующий интерферон. Однако интактные микробы данного штамма оказались в 40 раз более сильными индукторами, чем их экстракт в опытах на мышах при внутривенном введении [26]. Неодинаковые результаты по данному вопросу, возможно, определяются штаммовыми особенностями изучаемых бактерий и гетерогенностью используемых компонентов микробных клеток. Разные компоненты бактериальной клетки часто трудно очистить путем используемых химических методов — оказалось, что липополисахаридные препараты эндотоксина загрязнены белками. Показано, что рибосомы, полученные из кишечных палочек, были неактивными как индукторы интерферона [54]. По этим данным одонитчатая РНК не индуцирует образование интерферона. Что касается индукции интерферона бактериальными индукторами *in vitro*, то бактериальные токсины во многих случаях не способны защищать клетки от вирусной инфекции или вырабатывать интерферон *in vitro* [39]. По мнению исследователей бактериальные эндотоксины — липополисахариды только лишь при воздействии на перитонеальные лейкоциты и лейкоциты периферической крови животных и человека индуцируют выработку интерферона *in vitro* [129]. В связи с этим имеются разноречивые данные в литературе. Ряд авторов показывает, что эндотоксины и полисахариды бруцелл, кишечной палочки, сальмонелл, палочек инфлюэнции стимулировали образование интерферона в организме, но не в тканевых культурах [134, 37]. Другие утверждают, что бактериальные эндотоксины вызывают образование интерферона в перитонеальных лейкоцитах мышей, макрофагах, в клетках селезенки мышей *in vitro* [82], но для человеческих периферических лейкоцитов они не оказались стимулирующими [97]. Однако в человеческих лейкоцитах *in vitro* индуцировали образование интерферона дифтерийным, столбнячным анатокси-

ном и туберкулином. Мышинные перитонеальные клетки вырабатывали интерферон после воздействия индукторов не только бактериальными эндотоксинами, но и грамотрицательными бактериями [40]. При использовании же интактных клеток бордетелл — возбудителей коклюша в мышинных перитонеальных клетках не отмечалось ощутимой продукции интерферона, но через 2 часа был выявлен интерферон, который исчезал в сыворотке мышей, зараженных этим же возбудителем, через 6 часов [27]. На клетках куриных фибробластов и перевиваемых мышинных клетках не образовывали интерферон использованные в качестве индукторов пирогенал, лизаты бактерий Шигелла и Флекснер [22]. Эти же индукторы не защищали клетки *in vitro* от вирусной инфекции, а именно: клетки куриных фибробластов, кроличьих почек — от инфицирования вирусом вецикулярного стоматита, а клетки обезьяньих почек — от полиовируса [137]. Не обнаружено снижения цитопатического действия вируса в культуре клеток и после их обработки фильтратом холерного вибриона. Имеются данные, показывающие торможение размножения вирусов в культуре клеток при использовании бактериальных эндотоксинов. Эндотоксин, выделенный из бактерий брюшного тифа, и фильтрат кишечной палочки после воздействия на культуру клеток обезьяньей почки в течение трех последующих суток вызывал полную защиту данных клеток от последующего инфицирования полиовирусом.

Кроме перечисленных индукторов, индукция выработки интерферона была выявлена также у грибов и грибковых веществ. Продукты эстагирования таких грибов, как статолон, еленин, галактон, являются фракциями, полученными в процессе ферментации грибов *Penicillium statoloni*, *Penicillium funiculosum*, обладающих способностью индуцировать образование интерферона [76, 77, 78, 112, 65, 11, 7]. Статолон индуцировал образование интерферона в культуре ткани; при этом происходила защита клеток от цитопатического действия вируса вакцины [78]. В проведенных экспериментах выявлено, что внутрибрюшинное введение статолон не защищало от гибели мышей, инфицированных вирусом гриппа [75]. Анало-

тичные результаты были получены и в случаях предварительного интраназального применения на людях статолон в качестве перспективного индуктора для защиты от инфицирования вирусом гриппа и другими респираторными вирусными инфекциями. Однако после одной внутривнутрибрюшинной инъекции мышам статолон выявлена выраженная защитная реакция к последующему введению различных вирусов [79]. Статолон в качестве индуктора интерферона был испытан как *in vitro* в опытах на клетках куриных эмбрионов и мышей (при этом пик выработки интерферона отмечали на 6—13 ч), так и *in vivo* в опытах на белых мышах и *in ovo* на куриных эмбрионах. Статолон после внутривнутрибрюшинного введения белым мышам индуцировал образование интерферонов, отличающихся молекулярными весами. Предпосылкой для последующего использования статолон на людях как индуктора интерферона послужили данные по защите белых мышей от интраназального инфицирования вирусом гриппа при предварительном интраназальном введении мышам 300 мкг статолон. Указанная доза защищала от гибели 83% животных. Защита была вызвана выработкой интерферона в легких мышей в титре 1420 ед/мл. Эффективность статолон как индуктора интерферона была выявлена даже спустя 7 суток после его введения; при этом выживание зараженных вирусом гриппа белых мышей составило 22%. В случаях же однократного и многократного введения статолон выживало от 56 до 100% животных соответственно [8]. Обладал способностью защиты мышей от летальных доз, зараженных вирусом Семлики, и другой грибковый продукт — еленин, введенный мышам за 12—48 ч до заражения вирусом [123]. Такие грибковые вещества, как мананн, циклогексимид стимулировали образование интерферона в организме животных, но не в тканевых культурах. Подобное было отмечено и при использовании в качестве индуктора интерферона фитогемагглютина и имтогена [29, 44, 133]. Известно также об интерферогенной активности полисахарида, маннана, полученного из дрожжеподобных грибов. Последний при внутривенном введении мышам, а также *in vitro* на перитонеальных

лейкоцитах индуцировал образование интерферона [29, 89]. Индукторами интерферона оказались водные экстракты некоторых японских грибов *Aspergillus niger* в опытах *in vitro*, защищающих клетки культуры от цитопатического действия вирусов; в опытах *in vivo* была выявлена противовирусная активность у мышей, инфицированных вирусом гриппа [131]. Причем экстракты, приготовленные из спор грибов оказались более эффективными и менее токсичными, чем экстракты из зрелых грибов. Вырабатывался интерферон и под действием антибиотика канамицина, полученного из *Streptomyces kanamyceticus* при внутривнутрибрюшинном введении белым мышам. Индукция интерферона не в тканевых культурах, а в организме животных происходила под действием антибиотика грибкового происхождения — циклогексимида [138]. Однако последний, являясь ингибитором белкового синтеза, как при внутривенном, так и при внутривнутрибрюшинном введении животным, вызывал их гибель.

Использование грибов или некоторых веществ, экстрагированных из различных грибов, применяемых на моделях *in vitro* и *in vivo* в качестве индукторов интерферона, значительно расширило список последних.

Способность индуцировать образование интерферона как *in vivo*, так и *in vitro* была обнаружена у различных групп риккетсий [72, 132, 72, 51, 33, 84]. По данным этих авторов индукция интерферона является следствием внутриклеточного размножения риккетсий Музера (крысиный тиф), поскольку интерферон не был обнаружен при заражении таких же клеток взвесью желточных мешков здоровых куриных эмбрионов. Это включает возможную роль в процессе интерферонообразования вируса-контаминанта в куриных эмбрионах. Клетки же, содержащие вирус саркомы Рауса, при заражении риккетсиями Музера, продуцировали одинаковое с контрольными клетками (свободными от вируса саркомы Рауса) количество интерферона. Последнее свидетельствует о не связанной с латентными вирусами продукции интерферона.

К числу индукторов интерферона относят и внутриклеточные паразиты,



агенты TRIC (т. е. возбудители трахомы и конъюнктивита с включениями, которые сокращенно обозначают как TRIC), вырабатывающие интерферон *in vivo* и *in vitro* при наличии пика его в сыворотках мышей через 13 ч после индукции [106, 101]. Индуцируют интерферон в организме животных и тканевых культурах хламидии, возбудители трахомы [52, 58], а также бедсонии (облигатные внутриклеточные паразиты, т. е. группа пситакоза, венерической лимфогранулемы, трахомы), получившие название бедсоний или ПЛТ. Наблюдали образование интерферона и в сыворотке мышей через 10 ч при инфицировании их возбудителями токсоплазмоза (выделен от грызунов [118]), плазмодий [61] — титры повышались до 40 ч.

Особенный интерес вызывают работы, посвященные интерферогенности разных лечебных и профилактических средств. Для выработки интерферона *in vivo* и *in vitro* успешно были применены вакцины как в эксперименте, так и на практике. В первых работах показано защитное действие, индуцированное тифозной вакциной при экспериментальной вирусной инфекции белых мышей. Для индукции сывороточного интерферона у мышей использовали стандартную формализованную бактериальную вакцину, содержащую смесь стрептококков, стафилококков, гемофильной палочки инфлюэнции, пневмококков, гонококков [35]. В зависимости от количества введенной вакцины вырабатывался интерферон в максимальных титрах до 180 ед/мл через 4—6 ч; в динамике же концентрация интерферона в сыворотке падала. Вакцины применялись в виде целых клеток ряда микробов: стафилококков, стрептококков, диплококков. Кроме того, были испытаны бесклеточные экстракты этих микробов, а также комбинации бактерий и экстрактов. Все они вызывали появление интерферона в сыворотке с максимальным титром от 64 до 1024 через 2 ч, который исчезал из кровяного русла через 6 ч после внутривенного введения. Основываясь на экспериментальных данных, полученных при вспышке гриппа в организованных коллективах, в качестве индуктора была использована паротитная вакцина [20, 18, 13]. Защиту мышей от инфекции клещевого

энцефалита вызывала тифозно-паратифозная вакцина, что было связано с появлением интерферона в органах и в крови мышей [69]. Вакцина IRS<sub>19</sub> (лизаты антигенов из суспензий диплококка, стрептококков, гемофильных палочек инфлюэнции, клебсиелла пневмонии, менигококков), полученная в 1974 г. [36, 63], обладала интерферогенной активностью в лейкоцитах крови человека и в клетках костного мозга мышей. Известно, что из указанных компонентов, входящих в состав вакцины, интерферогенной активностью обладают гемофильные палочки инфлюэнции и клебсиелла пневмонии [104]. Кроме того, возможно, что лизаты других бактерий этого препарата также способны индуцировать интерферон на тех же моделях. Интерферон, продуцированный в лейкоцитах крови человека индуктором IRS<sub>19</sub>, преимущественно характеризовали как кислотостабильный интерферон. На способность индуцировать образование в клетках животных интерферона были испытаны убитые вакцины, применяемые против инфекционных заболеваний дыхательных путей человека. В состав этих вакцин входили смеси лизатов диплококков, стрептококков, стафилококков [25]. Как убитые вакцины, так и их составные части индуцировали продукцию интерферона в лейкоцитах крови человека и в организме мышей. При индукции лейкоцитов крови убитыми вакцинами была выявлена возможность образования 3-х разновидностей интерферона — кислотостабильного, кислотолabileного и У-интерферона [114]. Выработка различных интерферонов зависела от разновидности его продуцентов — лимфоцитов и вида индуктора, а также времени взятия материала после индукции. Как правило, α-интерферон образовывался раньше (через 2—3 ч), чем γ-интерферон, который вырабатывался через 2—3 суток. В опытах на мышах была использована убитая вакцина IRS<sub>19</sub>, после чего продуцировался сывороточный интерферон, защищающий мышей от вирусной инфекции. Кроме бактериальных вакцин, для индукции эндогенного интерферона был использован препарат SLO<sub>4</sub>, полученный после лизиса бактерий клебсиелла пневмонии и кишечных палочек [47, 125]. Этот препарат не содержал фаги, вирусы или дву-

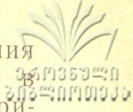
нитчатые РНК и успешно был применен для неспецифического лечения острых респираторных заболеваний и хронических бронхитов взрослых. Однако, следует отметить, что фаги и их нуклеиновые кислоты, выделенные при взаимодействии фага с бактериями, успешно защищали животных от респираторных инфекций [98, 42].

Таким образом, вещества, индуцированные разными индукторами бактериального происхождения как в организме, так и *in vitro* были идентифицированы и отнесены к классу интерферонов. Однако выяснилось, что они несколько отличаются от интерферонов, индуцированных вирусами, несмотря на имеющееся сходство в характеристике — способность подавлять вирусное размножение и соответствие классу белков с низкими молекулярными весами.

Выявленные отличия в первую очередь касаются динамики появления интерферонов в кровяном русле, в органах индуцированных животных и культуральной жидкости клеток *in vitro*. К примеру, в случае индукторов бактериального происхождения при введении бруцелл пик сывороточного интерферона такой же, как при индукции вирусом и статолоном. Т. е. к 4 ч после введения [24, 137, 102], в отличие от интерферона, индуцированного возбудителями брюшного тифа мышей, кишечной палочкой [9]. В других экспериментах максимальный уровень содержания интерферона в сыворотке животного достигал 2 и 6 ч после индукции и исчезал из кровотока к 22—24 ч. Скорость появления сывороточного интерферона во многих случаях не зависит от вида животного, а связана именно с особенностями индуктора. Интактные клетки грамотрицательных и грамположительных микробов, как например стафилококка, стрептококка, диплококка и др., давали высокие титры мышинного сывороточного интерферона через 2 ч с максимальным титром от 64 до 1024 *ед/мл*; через 6 ч после внутривенного введения индукторов он исчезал из кровяного русла [39]. В ответ на введение эндотоксина кишечной палочки в организме мышей ранний интерферон продуцировался спустя полтора часа, а у кроликов — через 2 часа. Также выявлено различие в кинетике образования интерферона *in vitro*. В перитоне-

альных клетках бактериальные индукторы индуцируют более раннее образование интерферона, чем вирусные [100]. Во взвеси клеток селезенки эндотоксин индуцировал выработку интерферона спустя 2 ч, при этом наблюдали и второй пик — через 8 ч после индукции [82]. Высвобождение интерферона, индуцированного эндотоксином кишечной палочки, отмечалось через 2 ч, максимум через 16 ч.

Накопленный экспериментальный материал дает возможность судить и о другом отличительном признаке — молекулярных весах интерферонов. Это различие было выявлено благодаря получению интерферонов разными индукторами [126]. Интерфероны, индуцированные бактериями и их эндотоксинами, характеризовались более высоким молекулярным весом — до 90 000, чем вирусные — 25 000. Однако надо отметить и гетерогенность по молекулярному весу интерферонов, индуцированных одним и тем же индуктором. Молекулярный вес интерферона, найденный в сыворотке, индуцированной эндотоксином, был значительно выше (54 000, 100 000), чем в моче — 35 000. Одновременно с выявленной идентичностью интерферонов, индуцированных статолоном и вирусом болезни Ньюкасла, проявившейся во времени появления интерферона в сыворотке мышей и продолжительностью, создаваемой им противовирусной защиты, было обнаружено и отличие молекулярных весов интерферонов: при индукции статолоном — 84 000—90 000 в сыворотке и 30 000 в селезенке мышей. Предполагают, что более тяжелый интерферон был лишь комплексной формой более мелких молекул, соединенных друг с другом или с иными клеточными компонентами. Возможно, два вида интерферона вырабатывалось различными видами клеток [103]. Различия в молекулярных весах были отмечены и в интерферонах, полученных через 2 ч в крови белых мышей. В одном случае — после введения им эндотоксина кишечной палочки в дозе от 25 до 250 *мкг* — интерферон был получен с весьма высоким титром и молекулярным весом 89 000; в другом — интерферон, индуцированный в те же сроки, имел молекулярный вес 25 000 [126]. В литературе имеются неоднозначные результаты, касающиеся и



других свойств бактериальных интерферонов. К примеру изучалась сохранность ингибитора вирусов при длительности обработки материала рН 2,0, прогревом при 56°—30°С, обработкой трипсином. Полученный мышинный сывороточный интерферон, индуцированный эндотоксином, отличался от вирусиндуцированного высокой термо- и кислотоустойчивостью, так же как и кроличий сывороточный интерферон, индуцированный эндотоксином [92] и бактериями коклюша [28]. Однако интерферон, индуцированный эндотоксином, обладал свойствами, характерными для вирусиндуцированного ингибитора, т. е. тканевой видовоспецифичностью, чувствительностью к трипсину, устойчивостью к действию кислоты, широким спектром антивирусного действия [73]. Следует отметить, что сравнительная лабильность, как характерный признак интерферона, индуцированного бактериями и их продуктами, наблюдается некоторыми исследователями в случае вирусиндуцированного интерферона, названного впоследствии кислотолабильным  $\alpha$ -лейкоцитарным интерфероном [95]. Ингибиторная активность кроличьей сыворотки, собранной спустя 2 ч после внутривенного введения вируса болезни Ньюкасла, была такой же лабильной, как интерферона, индуцированного эндотоксином кишечной палочки при прогреве до 56°С и диализированного при рН 2,0. Вирус Чикунгунья индуцировал образование физически различных друг от друга интерферонов на двух типах клеток различного происхождения — куриных и мышинных [98].

В литературе имеются данные о неодинаковом температурном режиме, оптимальном содержании животных для получения максимальных титров интерферона, индуцированного бактериями и вирусами [116]. Температурный оптимум для образования интерферона, индуцированного бактериями, ниже, чем для образования вирусиндуцированного интерферона. Эндотоксин кишечной палочки в организме кроликов и пирогенал в мышах давали пик максимальной интерферогенной активности при 24°С, тогда как в случае использования вируса болезни Ньюкасла пик наступал при 37°С. То же самое отмечалось и в системе *in vitro*: мышинные перитонеальные клетки лучше вырабатывали интер-

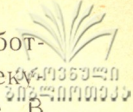
ферон при 36°С в случаях применения вируса болезни Ньюкасла, и 26°С в случаях индукции эндотоксином. При чем «оптимальная» температура 26°С требовалась только первые 4 ч стимуляции интерферона эндотоксином [30]. Перенос же обработанных клеток при 36°С не депрессировал высвобождения интерферона. Однако для успешного интерферообразования *in vitro* эндотоксином обязательным условием является свежесть перитонеальных клеток и периферических лейкоцитов, в то время как в случае использования вируса болезни Ньюкасла преинкубирование клеток успешно продуцирует интерферон [86, 90, 30, 87]. Чувствительность эксплантированных перитонеальных клеток к стимуляции эндотоксином быстро исчезает *in vitro* [30, 86]. Интерферогенез, индуцированный бактериальными индукторами, сравнительно мало изучен, нет ясного представления о механизме данного явления и месте образования ингибитора, несмотря на работы по изучению взаимодействия бактерий с животными клетками [4, 5]. Отмеченные вопросы изучались в основном на модели бактериальных эндотоксинов. Существует мнение о двух типах продукции интерферона: «типа эндотоксина» и «типа вируса» [137, 57]. Отличие между двумя типами стимуляции интерферона базировалось на различной динамике высвобождения интерферона *in vivo*, на разной чувствительности этих процессов к ингибиторам метаболизма и на предположении, что клетки, которые стимулируются индукторами типа эндотоксина, относятся к клеткам иммунокомпетентным и моноцитарнофагоцитарного ряда. Существование двух типов индукционного механизма подтверждено на модели этих клеток *in vitro* [88, 30]. Основываясь на тех же фактах, выявлены различия в динамике появления «вирусного», «эндотоксинного» типа интерферонов *in vivo* и *in vitro*. Что же касается разной чувствительности этих процессов к ингибиторам метаболизма, то циклогексемид в дозе, ингибирующей протеиновый синтез клетки, не предотвращает появление интерферона после внутривенного введения животным эндотоксина, не подавляет образование интерферона, индуциро-

ванного вирусом болезни Ньюкасла, и не дает эффекта при введении через 2—3 ч эндотоксинной индукции. Актиномицин Д не влияет на стимуляцию интерферона эндотоксином, но максимально подавляет продукцию интерферона, вызванную вирусом Синдбис [57]. Пуромицин действует подобно циклогексимиду и актиномицину Д на эндотоксиновые и вирусные типы интерферогенеза [74]. Надо отметить, что в случае бактериальных и грибковых индукторов ингибиторы белкового синтеза не только подавляют, но и во многих случаях усиливают индукцию интерферона [91, 96]. Однако эстрон одинаково подавлял антивирусное защитное действие и интерферонообразование, индуцированное такими индукторами как стаболон, пиран, вирус болезни Ньюкасла, эндотоксин кишечной палочки, поли И:Ц. Существует мнение, некоторых исследователей, что чувствительность к метаболическим ингибиторам не обязательно отражает фундаментальное различие в механизме индукции интерферона [41]. Данное предположение основывается на том, что «вирусный тип» интерфероногенеза подразумевает синтез интерферона *de novo*, «эндотоксинный» же — высвобождение уже предшествующего интерферона. Однако в последнем случае существует требование синтеза белка, являющегося ферментом, вовлеченным в освобождение предварительно образованного «преформированного» из клеток интерферона [50]. Поэтому для высвобождения преформированного интерферона нужны определенные обменные, синтетические процессы в клетке. Таким образом, механизм индукции выработки интерферона происходит двояким путем, зависящим от свойств каждой клетки, включающей синтез *de novo* интерферона. Этот тип индуцируется либо вирусами, либо двуспиральной РНК, связан с иммунокомпетентными клетками и клетками моноцитарно-фагоцитарного ряда, которые содержат неактивный интерферон, активируемый и освобождаемый с помощью невирусных индукторов, включая бактерии, эндотоксин, сополимеры пирана и двуспиральные РНК [57, 126]. Эндотоксинный интерферон в больших титрах обнаружен в селезенке, перитонеальных макрофагах, лимфоцитах, макрофагах костного мозга. Все это

свидетельствует о важной роли лимфоцитарно-фагоцитарных и иммунокомпетентных клеток в синтезе интерферона. Значительное подавление продукции циркулирующего интерферона в организме мышей вызывала спленотомия. В этом случае интерферон индуцировали введением эндотоксина внутривенно; ингибирующий эффект при этом был менее выражен, чем при внутрибрюшинном введении. Повидному, при внутрибрюшинном способе введения эндотоксина захватывался перитонеальными макрофагами, которые и вырабатывали большую часть интерферона. При внутривенном введении основная роль принадлежала селезенке. Важная роль селезенки отмечалась и в интерфероногенезе, индуцированном интактными бактериальными клетками, в частности возбудителями коклюша. Причем у спленэтомированных мышей интерферон в процессе интерферонообразования являлся индуцированным эндотоксином. Кроме того, показана роль сальника в процессе интерферонообразования, когда внутрибрюшинное введение эндотоксина мышам с удаленным сальником не индуцировало образование интерферона в крови, а внутривенное введение сопровождалось выработкой интерферона. Обратные результаты наблюдались у спленэктомированных мышей. Эти данные свидетельствуют о важной роли сальника и селезенки в интерферогенезе при разных способах введения эндотоксина [83, 14, 67].

Была отмечена различная выработка интерферона в ответ на разные невирусные и вирусные индукторы при проведении сравнительного исследования роли лимфоцитов и макрофагов. Индукция интерферона проводилась такими индукторами как вирус болезни Ньюкасла, поли И:Ц, эндотоксин. Оказалось, что мыши, у которых количество лимфоцитов избирательно снижено, а количество макрофагов не изменено, вырабатывают интерферон по-разному. При введении вируса болезни Ньюкасла интерферонсинтезирующая способность терялась на 90—95%; при индукции поли И:Ц интерферон вырабатывался так же, как и в контрольной группе мышей. В случаях применения в качестве индуктора эндотоксина получено





увеличение интерферонообразования в 4—6 раз. Выяснилось, что указанные различия зависели от того, какие из двух видов клеток, т. е. лейкоциты или макрофаги активируются тем или иным индуктором. Специфичность же выбора между двумя типами клеток заложена в самом индукторе. Интересные данные получены при использовании в качестве индуктора эндотоксина: происходит быстрое проникновение и появление интерферона в клетках организма. Эндотоксин, введенный кроликам, индуцировал выработку интерферона в тканях селезенки, тимусе, печени, а иногда в почках и сальнике [187]. Оказалось, что эндотоксин после введения в организм аккумулирует в первую очередь в селезенке и печени [34], затем в эндотелии кровеносных сосудов. Более замедленная реакция имела с белыми кровяными шариками, в то время как клетками Купфера эндотоксин адсорбировался в течение 5 мин. При введении эндотоксина отмечалось воздействие на миграцию макрофагов в организме и изменение фагоцитарной активности [109].

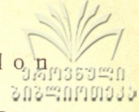
О способности иммунокомпетентных клеток и клеток моноцитарно-фагоцитарного ряда продуцировать антитела, пироген, факторы клеточного иммунитета (фактор ингибиции, лимфотоксин и др.) известно давно. Известно и то, что интерферон является одним из многих биологически активных продуктов, стимулированных этими же клетками.

Таким образом, препараты интерферона, полученные *in vivo* и *in vitro* под воздействием живых и интактных бактериальных индукторов, их продуктов, грибков или некоторых веществ, экстрагированных из грибков, риккетсий, хламидий, бактериальных вакцин, отличаются друг от друга по некоторым физико-химическим показателям в зависимости от типа использованного индуктора. Были обнаружены интерфероны разного молекулярного веса в сыворотках и органах животных. Это различие в молекулярном весе может указывать на различные клеточные источники, производящие интерферон. Последнее может опровергнуть мнение, что вирус-

ные индукторы стимулируют выработку интерферонов с меньшим молекулярным весом, чем бактериальные. В то же время, все они обладают общими важнейшими биологическими свойствами таким как противовирусная активность в отношении иРНК и ДНК геномных вирусов как на моделях *in vivo*, так и *in vitro*. Однако, несмотря на способность бактерий и их продуктов выполнять функцию индукторов интерферона, отмеченное не решает положительно вопроса о применении этой группы индукторов в медицинской практике, так как эти индукторы в существующей ныне форме могут играть роль и отрицательного фактора, а в некоторых случаях быть и активаторами инфекции в результате контаминации другими бактериями. При пониженной способности сопротивления инфекции у отдельных лиц подобные индукторы могут стать этиологическими агентами инфекционных заболеваний. Применяемый в качестве индуктора интерферона эндотоксин обладает значительной противовирусной активностью, но в некоторых случаях она проявляется только в концентрациях, обладающих токсическим действием. Побочное действие этих индукторов может проявляться также в продукции антител и лихорадочных реакций у людей, в перестройке целого ряда реакций организма, изменении концентрации кровяного тканевого лизоцима, стероидных гормонов, глюкозы, молочной кислоты, миграции макрофагов, фагоцитарной активности. Одновременно необходимо подчеркнуть, что все исследования, проведенные по выявлению активных индукторов интерферона, актуальны. Полученные результаты по интерфероногенезу, индуцированному бактериями и их продуктами, весьма интересны с теоретической точки зрения, поскольку могут объяснить механизм интерфероногенеза и взаимодействия клетки и бактерий.



1. Брувере Р. Ж., Фельдманс Г. Я. Индукторы интерферона, Рига, 1981.
2. Букринская А. Г. Вирусология, «Медицина», М., 1986.
3. Верезуб Л. Г., Лейбова И. М., Вельвовская Р. А., Добжинский М. Г. В кн.: Вакцины и сыворотки, Киев, 1974, 112—115.
4. Георгадзе И. И., Антадзе И. А. Мат. конф. Тбил НИИВС, посвященной 50-летию комсомола Грузии, Тбилиси, 1971, 7—20.
5. Георгадзе И. И., Антадзе И. А. Мат. конф. мол. медиков ГССР, посвященной 50-летию образования СССР, 1973, 393—394.
6. Георгадзе И. И., Биркадзе Т. Г., Чанишвили Т. Г., Орлова Т. Г., Чичинадзе Э. В., Гачечиладзе К. К., Когновицкая А. И. Изв. АН ГССР, сер. биол., 6, 5, 462—468, 1980
7. Георгадзе И. И., Орлова Т. Г., Когновицкая А. И. Мат. III Всес. конф. по общей и прикладной иммунологии, М., 1, 1974, 38—39.
8. Георгадзе И. И., Ратникова Н. В. В сб.: «V Респ. научн.-техн. конф. молодых ученых и специалистов Орджоникидзевского РК ЛКСМ Грузии», Тбилиси, 1976, 190—193.
9. Георгадзе И. И., Сесиашвили И. И., Чанишвили Т. Г. Изв. АН ГССР, сер. биол., 13, 3, 208—211, 1987.
10. Георгадзе И. И., Чанишвили Т. Г., Когновицкая А. И., Алавидзе З. И., Орлова Т. Г., Биркадзе Т. Г. Изв. АН ГССР, сер. биол., 5, 1, 557—562, 1978.
11. Георгадзе И. И., Чанишвили Т. Г., Орлова Т. Г., Когновицкая А. И., Алавидзе З. И. Мат. III Всес. конф. по общей и прикладной иммунологии, М., 1, 1974, 39—40.
12. Георгадзе И. И., Чанишвили Т. Г., Ратникова Н. В. Теор. и практ. вопросы бактериофагии (Мат. симп.), Тбилиси, 1, 1974, 130—132.
13. Городнев А. Н., Осидас Л. В., Богоштейн Т. П. В сб.: Эпидемиол., иммунология, профилактика респираторных вирусных заболеваний, Л., 1971, 171—177.
14. Гутман Н. Р., Сорокин А. М. Вopr. вирусологии, 1, 68—73, 1973.
15. Ершов Ф. И., Жданов В. М. ДАН СССР, 164, 5, 1965, 1165—1166.
16. Ершов Ф. И., Новохатский А. С. Интерферон и его индукторы, «Медицина», М., 1980.
17. Ершов Ф. И., Новохатский А. С. Индукторы интерферона, «Знание», Рига, 1981.
18. Карапац Н. М., Швецова Е. Г., Шапошникова Р. М. В сб.: Эпидемиол., иммунол., профилактик. респираторных заболеваний, Л., 1971, 123—136.
19. Ложа В. П., Фельдман Г. Я. Изв. АН Лат. ССР, II, 85—98, 1977.
20. Смородинцев Ал. А., Гвоздикова Д. А., Аксенов О. А. В сб.: Интерферон, Л., 1970, 153—167.
21. Соловьев В. Д., Бектемиров Т. А., Федорова Ю. Б. Вopr. вирусологии, 7, 420—425, 1967.
22. Соловьев В. Д., Бектемиров Т. А. Интерферон в теории и практике медицины, М., 1970.
23. Щегловитова О. Н., Петрухин В. Г., Менткевич Л. М. Радиационная микробиология и иммунология, М., 1977, 92—93.
24. Baron S., Buecker C. Science, 141, 1061—1063, 1963.
25. Baron S., Howie V., Langford M. I. International Congress for Interferon Research., San Francisco, 1981, 9.
26. Billian A., Schoupe E., Eyskens L., Somer P. Infect. and Immun., 2, 6, 698—704, 1970.
27. Borecky L., Lackovic V. Acta Virol., 10, 271—272, 1966.
28. Borecky L., Lackovic V. Acta Virol., 11, 2, 150—155, 1967.
29. Borecky L., Lackovic V. Acta Virol., 11, 3, 264—269, 1967.
30. Borecky L., Lackovic V., Nasche K., Fuchsberger N. Proc. Microbiol. Reserch Group. Hung. Acad. Sci., Budapest, IV, 17—27, 1972.
31. Bousgnat C., Ramuz M., Serge J., Roux J. Ann. Microbiol., 124 A, 1, 71—82, 1973.
32. Bousgnat C., Senglat C., Ramuz M. C. R. Acad. Sci., 282, 513—516, 1976.
33. Bresina R., Kazar J., Schramk S. Acta Virol., 12, 382—386, 1968.
34. Cremer N., Watson D. Proc. Soc. Exp. Biol. Med., 95, 510—513, 1957.
35. Degre M., Dahl H. Proc. Soc. Expt. Biol. Med., 1, 233—236, 1971.
36. Degre M., Dahl H. Acta path. microbiol. scand., B, 82, 904—910, 1974.



37. De Clerég E., De Merigan T. J. Immunol., **103**, 5, 899—906, 1969.

38. De Clerég E., De Merigan T. Arch. Intern., Med., **126**, 1, 94—108, 1970

39. De Clerég E., De Somer P. Proc. Soc., Expt. Biol. and Med., **132**, 2, 699—703, 1969.

40. De Maeyer E., Fanve R. Ann. Inst. Pasteur, **120**, 3, 438—446, 1971.

41. Finkelstein M. S., Bausek J. H., Merigan T. C. Science, **161**, 465—468, 1968.

42. Finter N. Interferon Res., **7**, 497—500, 1988.

43. Fresman M., Merigan T., Romington J. Proc. Soc. Exp. Biol. Med., **223**, 862, 1966.

44. Friedman R., Coopfer H. Proc. Soc. Expt. Biol. and Med., **125**, 3, 901, 1967.

45. Galabov A., Galabov S. Regional Conf. on Interf. and Interf. Inducers., **2**, 10—15, 1972.

46. Galabov A., Galabov S. Acta Virol., **17**, 493—500, 1973.

47. Gilles M., Vanderhoven C., Stefanos S. Antiviral Res., **5**, 1, 161—166, 1985.

48. Gledhill A. Brit. J. Exp. Path., **40**, 195—198, 1959.

49. Gramer H., Watson J. Proc. Soc. Exp. Biol. Med., **95**, 510—516, 1957.

50. Grossberg S. N. J. J. of Medicine, **287**, 13—19, 79—85, 122—128, 1972.

51. Halon N., Kozikowski E. J. Gen. Virol., **3**, 125—127, 1968.

52. Hanna L., Merigan T., Iawetz E. Proc. Soc. Exp. Biol. Med., **122**, 417 — 419, 1966.

53. Hanna L., Merigan T., Iawetz E. Ann. J. Ophthalmol., **63**, 1115 — 1119z 1967.

54. Hilleman M. R. Arch. Int. Med., **126**, 1, 109—124, 1970.

55. Ho M., Science, **146**, 3650, 1472 — 1476, 1964.

56. Ho M. Ke J. Virology, **40**, 693 — 702, 1970.

57. Ho M., Kohno S. Proc. Nat. Acad. Sci., **53**, 1, 220—224, 1965.

58. Ho M., Postic B., Ke I. Iw. Interferon, Ciba Foundation Symposium, London, 1968, 19.

59. Houps H., Kohno S., Kohno M., Smadol S. Bact. Proc., 115—117, 1964.

60. Horsfall F. J. Exp. Med., **85**, 625 — 628, 1947.

61. Huang K., Schultz W. ISM, 1968, 83.

62. Iasuhi Ko, Kitasate Arch. Exp. Med., **43**, 1—2, 35—44, 1970.

63. Inglat A., Inglat O., Kisielo B. Acta Virol., **23**, 350—355, 1979.

64. Isaaks A., Lindenman J. Proc. Roy. Soc., B **147**, 13, 258—263, 1957.

65. Ishida N., Suzuki F., Suzuki G., Suzuki M., Imayama M., Chaki F. Interferon Sci. Nemo, **1**, 5671—5675, 1971.

66. Ito I., Kumii A., Mori M., Nagata I. Virology, **44**, 3, 638—641, 1971.

67. Ito I., Nagata I., Kumii A. Virology, **56**, 1, 362—364, 1973.

68. Jenkin H., Lu I. Am. J. Ophthalmol., **63**, 1110—1115, 1967.

69. Kandefer-Szerszein M., Kaweck i Z. Acta Microbiol. Polonica, Ser. A, **22**, 156—162, 1973.

70. Kandefer-Szerszein M. Acta Microbiol. Polonica, Ser. A, **22**, 3—4, 163—168, 1973.

71. Kato N., Nakashima S., Ohta M. Infect. and Immun., **12**, 1—6, 1975.

73. Kazar J. Acta Virol., **10**, 3, 277—279, 1966.

73. Ke I., Ho M. J. Virology, **5**, 883—890, 1967.

74. Ke I., Singer S., Postic B. Proc. Soc. Exp. Biol. and Microb., **121**, 1, 181 — 183, 1966.

75. Kleinschmidt W. Personal. Comm. IEC, **6**, 1969.

76. Kleinschmidt W., Clime S., Murphy E. Proc. Nat. Acad. Sci. USA, **52**, 741—746, 1964.

77. Kleinschmidt W., Murphy E. Virolog., **27**, 484—488, 1965.

78. Kleinschmidt W., Murphy E. Fed. Proc., **24**, 338—340, 1965.

79. Kleinschmidt W., Murphy E. Bact. Rev., **31**, 132—138, 1967.

80. Kleinschmidt W., Probst G. Antibiot. Chemotherapy, **12**, 298—302, 1962.

81. Kleinschmidt W., Streigatof F. Infect and Immun., **4**, 6, 738—741, 1971.

82. Kobayashi S., Iasni C., Masuzumi M. Proc. Soc. Exp. Biol. Med., **131**, 2, 487—489, 1969.

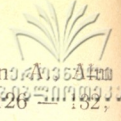
83. Kobayashi S., Iasui C., Masuzumi M. ISM, **147—149**, 1969.

84. Kohno S., Kobase M., Sakata H. J. Immunol., **105**, 6, 1553—1558, 1970.

85. Kono I. Arch. des. Virusforsch., **21**, 276—280, 1967.

86. Lackovic V., Borecky L. Regional Conf. on Interferon and Interferon Inducers, **2**, 1972, 19.

87. Lackovic V., Borecky L. Acta Microbiol. Polonica, Ser. A, **3—4**, 148—151, 1973.



88. Lackovic V., Borecky L., Sike D. *Acta Virol.*, **11**, 6, 500—506, 1967.
89. Lackovic V., Borecky L., Sike D., Masler L., Baner S. *Proc. Soc. Exp. Biol. and Med.*, **134**, 3, 874—879, 1970.
90. Lackovic V., Borecky L., Ycugner J. *Acta Virol.*, **16**, 3, 217—225, 1972.
91. Levine S. *Virology*, **24**, 4, 586—588, 1964.
92. Lobadzinska M., Bicrnacka I., Skurska Z. *Acta Microbiologica Polonica, Ser. A (22)*, 3—4, 174—176, 1973.
93. Lukas B., Hruskova I. *Folia Microbiol.*, **12**, 157—161, 1967.
94. Lukas B., Hruskova I. *Acta Virolog.*, **12**, 3, 257—262, 1968.
95. Macharo N., Nagana I. *Jap. J. Microbiol.*, **14**, 4, 257—260, 1970.
96. Marcus P., Salb J. *Virology*, **30**, 3, 502—516, 1966.
97. Matisava E., Buterovo E. *Acta Virolog.*, **14**, 1, 1—7, 1970.
98. Merigan T. *Science*, **145**, 811—813, 1964.
99. Merigan T. *Bacteriological Reviews*, **31**, 2, 138—144, 1967.
100. Merigan T. *ISM*, 188—190, 1969.
101. Merigan T., Hanna L. *Proc. Soc. Exp. Biol. and Med.*, **12**, 2, 421—424, 1966.
102. Merigan T., Kleinschmidt I. *Nature*, **208**, 5011, 667—669, 1965.
103. Merigan T., Kleinschmidt I. *Nature*, **212**, 1383—1386, 1966.
104. Michaels R., Weinberger T. *Ho M. N. Engl. J. Med.*, **272**, 1148—1152, 1965.
105. Morahan P., Grossberg S. *Proc. Soc. Exp. Biol. and Med.*, **134**, 342—347, 1970.
106. Mordhorst C., Reinieke V. *Acta Pathol. Microbiol. Scand.*, **65**, 545—553, 1965.
107. Muyembe I., Billan A., Sommer P. *Arch. des Virusforsch.*, **38**, 4, 290—296, 1972.
108. Nagata S., Mantei N., Weisman C. *Nature*, **287**, 401—408, 1981.
109. Novotny N. *Bacteriol. Revs.*, **33**, 72—74, 1969.
110. Oh I. *Proc. Soc. Exp. Biol. and Med.*, **122**, 493—496, 1966.
111. Pugliese A., Girardello R., Valprede A., Galle M., Tovo P. G. *Bacteriol. Viral and Immunol.*, **77**, 1—6, 106—112, 1984.
112. Richard E., Shope R. *J. Exp. Med.*, **24**, 4, 915—919, 1966.
113. Richmond J. *Arch. des Virusforsch.*, **27**, 2, 282—285, 1969.
114. Rounllon L., Forsgren G. *Arch. des Virusforsch.*, **40**, 120—132, 1983.
115. Rubinstein R. J. *Interferon Res.*, **7**, 545—551, 1979.
116. Ruiz-Gomez S., Sosa-Martinez J. *Arch. des Virusforsch.*, **17**, 293—295, 1965.
117. Rytel M., Shope R., Kulbourne E. J. *Exp. Med.*, **123**, 4, 577—579, 1966.
118. Rytel M., Sones T. *Proc. Soc. Exp. Biol. and Med.*, **123**, 3, 859—862, 1965.
119. Schubert K., Bergmann K., Rents E. *Allergologia, Rd 5*, 3, 234—237, 1984.
120. Scott G. *Trends Biotechnol.*, **4**, 4, 78—79, 1986.
121. Shilo A. *Ann. Rev. Microbiol.*, **13**, 255—258, 1959.
122. Shope R. E. *J. Exp. Med.*, **97**, 61—650, 1953.
123. Shope R. E. *J. Exp. Med.*, **123**, 213—215, 1966.
124. Smith T., Lubiniecki A., Armstrong J. *Proc. Soc. Exp. Biol. and Med.*, **142**, 2, 481—486, 1973.
125. Stefanos S., Vanderbover C., Wietzebin S. *J. Immunopharmacol.*, **7**, 1, 43—52, 1985.
126. Stinebring W., Youngner J. *Nature*, **204**, 712, 4959—4963, 1964.
127. Stinebring W., Youngner J. *Personal Communic.*, *IEC*, **6**, 147—150, 1965.
128. Strander H. *Texas Rep. Biol. Med.*, **35**, 429—439, 1977.
129. Strander H., Cantell K. *IX Inter. Conf. Microbiol., Moscow*, **560**, 1966.
130. Toth M., Karcasi Y., Evstasviev A., Duda B. *Acta Microbiol. Hungary*, **35**, 2, 142—145, 1988.
131. Tsunoda A., Ichida N. *Ann. J. Acad. Sci.*, **173**, 1, 719—726, 1970.
132. Wei Wen-Pin, An Ch'ing-On, Ch'ing Lo-Huav. *Acta Microb.*, **12**, 1, 33, 1966.
133. Youngner J. *J. Gen. Physiol.*, **56**, 1—2, 253—255, 1970.
134. Youngner J., Haflum J. *Virology*, **35**, 1, 177—179, 1968.
135. Youngner J., Salvin S. *J. Immunol.*, **111**, 1914—1921, 1973.
136. Younger J., Stinebring W. *Science*, **144**, 1022. 16, 1964.
137. Youngner J., Stinebring W. *Science*, **144**, 3621, 68, 1964.
138. Youngner J., Stinebring W., Taube S. *J. Virology*, **27**, 4, 541—543, 1965.

ი. გიორგაძე, ი. სესიაშვილი, თ. ჭანიშვილი, მ. მინაშვილი

გ. ელიაშვილის სახელობის სსკ „ბაქტერიოფაგია“  
თბილისის ვაქცინების და შრატების სამეცნიერო-კვლევითი ინსტიტუტი

რ ე ზ ი უ მ ე

წარმოდგენილია ლიტერატურული წყაროები, რომლებიც ეხება ინტერფერონის *in vivo*, *in vitro* წარმოქმნის პროცესს ბუნებრივი და მიკრობული ინდუქტორების და მათი წარმოებულების გამოყენებით.

ინტერფერონის წარმოქმნის პროცესში აქტიურობასა და მსგავსებასთან ერთად, რომლებიც გამოწვეულ იქნა სხვა და სხვა ბაქტერიებით და მათი წარმოებულებით, გამოვლენილ იქნა აგრეთვე დამახასიათებელი სხვაობები.

აღმოჩენილია ბაქტერიული ინტერფერონის მნიშვნელოვანი ბიოლოგიური თვისებები

როგორც სიმსივნის საწინააღმდეგო, ასევე ანტივირუსული რნმ და დნმ გენომური ვირუსების *in vivo*, *in vitro* მოდელეზზე. მაგრამ ყოველივე ამან ვერ გადაჭრა დადებითად შესწავლილი ინდუქტორების ჯგუფის სამედიცინო პრაქტიკაში გამოყენების საკითხი.

ლიტერატურულ წყაროებში მოცემული ექსპერიმენტული მასალა საინტერესოა ცნობებით, რომლებიც ეხება როგორც აქტიურ ინდუქტორებს, ასევე ინტერფერონოგენეზის მექანიზმის ახსნას და უჯრედის და ბაქტერიის ურთიერთმოქმედებას.

BACTERIAL INDUCTORS FOR INTERFERON FORMATION

I. GEORGADZE, I. SESIASHVILI, T. CHANISHVILI, M. MINASHVILI

SIA «Bacteriophagy», Tbilisi  
Tbilisi Scientific Industrial Institute of Vaccine and Sera

S u m m a r y

In this paper the literary sources concerning interferon production *in vivo* and *in vitro* with the use of natural microbic inductors and their products are presented.

Besides the resemblance and activity in the process of interferon formation caused by different bacteria and their products, typical differences were shown.

The most important biological properties of bacterial interferons such as antitumoral and antiviral with respect to RNA

and DNA genome viruses, on models *in vivo* and *in vitro* were found. But it didn't settle the question on application of these inductors group in medical practice positively.

The experimental material adduced in literary sources, is of great interest, had concerns the determination of active inductors and the information, for explanation of interferonogenesis mechanism, the interaction of cell and bacteria.

УДК 576.859 : 599.8 : 616-092 : 616.017.1

ВИРУСОЛОГИЯ

## РАСПРОСТРАНЕННОСТЬ ИНФЕКЦИИ РЕТРОВИРУСАМИ С- И D- ТИПОВ СРЕДИ ОБЕЗЬЯН В ПИТОМНИКАХ НИИЭПит

Ю. В. Харашвили, С. А. Резикян

НИИ экспериментальной патологии и терапии, Сухуми

Поступила в редакцию 24.05.91

Проведенным обследованием макак производственного стада питомников НИИЭПит показано, что инфицированность их обезьянами ретровирусами D-типа значительно ниже, чем в других приматологических центрах. Продемонстрировано наличие существенного разброса в уровне инфицированности у различных видов макак— от 18% у *M. mulatta* до 0% у *M. arctoides*. Показано возрастание количества серопозитивных особей в повторно обследованных группах обезьян. Получены данные об инфицированности ретровирусами D-типа вьетнамских *M. mulatta*, поступивших из мест естественного обитания. Показано, что инфицированность импортируемых из Индонезии *M. fascicularis* в последние годы значительно возросла.

Скрининг сывороток зеленых мартышек продемонстрировал, что частота инфицированности вирусом иммунодефицита обезьян подвидов *S.a. aethiops* и *S.a. pygerythrus* сильно варьирует как в производственном стаде, так и в местах естественного обитания. Выявлена существенная разница в распространении инфекции среди обезьян подвида *S. a. pygerythrus*, обитающих в Кении и Танзании (17 и 56% соответственно). Показано наличие перекрестной реактивности антител в сыворотках серопозитивных обезьян, в основном с белками gp-32, gp-120, p24 SIV<sub>mac</sub>. Ни у одной из обследованных обезьян не обнаружено признаков патологии, ассоциированной с ретровирусами С-типа.

В последние годы ретровирусы приматов стали объектом активного изучения. Это объясняется прежде всего ретровирусными иммунодефицитами обезьян, обнаруженными после появления первых публикаций о синдроме приобретенного иммунодефицита (СПИД) человека. В настоящее время не вызывает сомнений факт существования двух типов СПИДа обезьян (ОСПИД) [4]. Этиология одного из них связана с ретровирусами D-типа (групповое название SRV—simian retroviruses), ассоциированными с массовыми заболеваниями макак в ряде американских приматологических центров [4]). Хотя

заболевание, вызываемое SRV, не может служить моделью СПИД человека, изучение SRV важно для приматологии как в теоретическом, так и в практическом аспектах.

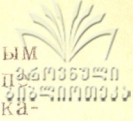
Другим этиологическим агентом ОСПИД являются ретровирусы подсемейства лентивирусов (групповое название SIV—simian immunodeficiency viruses), близкородственные вирусам СПИД человека.

Настоящая работа посвящена изучению инфицированности ретровирусами SRV и SIV низших приматов питомников НИИЭПит, а также обезьян, импортируемых из мест естественного обитания.

### МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Исследовались обезьяны видов *Papio hamadryas*, *Macaca mulatta*, *M. nemestrina*, *M. fascicularis*, *M. arctoides*, *M.*

*fusca*, *M. asamensis*, а также обезьяны вида *Cercopithecus aethiops*, объединяющие африканских зеленых мартышек



подвидов *C. a. aethiops*; *C. a. pygerythrus* *C. a. tatalus*, *C. a. sabaeus*.

Изучаемая группа животных включала обезьян, полученных из мест естественного обитания и рожденных в неволе.

Использовались следующие клеточные культуры и вирусы:

Т-клеточная перевиваемая линия HUT-78, продуцирующая SIV<sub>mac</sub>; Т-клеточная перевиваемая линия HUT-78, продуцирующая SRV (обе клеточные линии любезно предоставлены доктором, П. Маркс из Калифорнийского университета, Дэвис, США).

Вирусные концентраты (1000х) были получены из культуральной жидкости по стандартной методике [6].

Первичный скрининг сывороток на наличие антител к антигенам SIV и SRV осуществляли с помощью твердофазного иммуноферментного анализа (ИФА) [2]. Сенсибилизацию лунок планшетов проводили соответствующим вирусным концентратом (SRV — для диагностики SRV инфекции и SIV<sub>mac</sub> — для SIV инфекции), разведенным в карбонат-бикарбонатном буфере, pH 9,6, 1:100 (18 часов, 4°C). В случае определения антител к вирусу, кроме цельного вируса, в качестве антигена использовали также рекомбинантный трансмембранный гликопротеид gp-20 (4 мкг/мл) [5], любезно предоставленный доктором П. Марксом (Дэвис, США). После сенсибилизации планшеты блоки-

ровали 8%-ным сухим обезжиренным молоком (30 мин, комнатная температура); инкубировали с сыворотками исследуемых обезьян в оптимальном разведении в ФСБ—твин-20 (1 ч, 37°C). Детекцию проводили пероксидазным конъюгатом против суммы иммуноглобулинов человека (1 ч, 37°C). Концентрации антигена и конъюгата оптимизировали с целью получения максимальной разницы между положительным и отрицательным контролями при отсутствии неспецифической окраски. В качестве субстрата использовали ортофенилендиамин. Значения оптической плотности определяли при длине волн 492 нм.

Специфичность антител в сыворотках обезьян подтверждали в реакции Вестерн-блоттинга (ВБ) [1]. Электрофорез вирусов проводили в 5—20%-ном градиентном полиакриламидном геле в присутствии додецилсульфата натрия; белки переносили на нитроцеллюлозу (НЦ) методом электропереноса; блокировку осуществляли 8%-ным сухим обезжиренным молоком (30 мин, комнатная температура). Далее последовательно инкубировали НЦ с сыворотками обезьян в разведении 1:50 в ФСБ—твин-20 (16 ч, комнатная температура) и пероксидазным конъюгатом против суммы иммуноглобулинов человека в разведении 1:100 (2 ч, 37°C). Для выявления присутствия связанной пероксидазы применяли диаминобензидин.

## РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

При исследовании 273 зеленых мартышек четырех подвидов с помощью ИФА были выявлены 34 серопозитивные особи, из которых 12 рождены в неволе, а 22 привезены из мест естественного обитания. В этой группе животных не наблюдалось никаких признаков патологии, ассоциированной с SIV. Спектр антител в сыворотках обезьян, серопозитивных по данным ИФА, был охарактеризован с помощью ВБ с использованием в качестве тест-антигена SIV<sub>mac</sub>. Как правило, наблюдалась перекрестная реактивность с белками gp-32 (продукт гена env, аналог gp-41 ВИЧ), gp-130 (продукт гена env, аналог gp-120 ВИЧ-1), а также с главным структурным белком р 24 (продукт гена

gag). Реактивность антител в сыворотках зеленых мартышек с различными антигенами SIV<sub>mac</sub> не зависела от подвида обезьян.

Изучаемая группа животных включала обезьян как полученных из мест естественного распространения (Кения, Эфиопия, Танзания), так и из производственного стада НИИЭПит. Показано, что инфицированность зеленых мартышек производственного стада значительно варьирует в зависимости от подвида: 17% для животных подвида *C. a. pygerythrus* и 0,7% — для *C. a. aethiops*. Обнаружены также две серопозитивные обезьяны подвидов *C. a. sabaeus* и *C. a. tatalus*. Последние представляют особый интерес, поскольку ареа-



лы этих подвидов расположены в районах Африки, эндемичных по СПИД человека. Исследование потомства серопозитивной самки и серонегативного самца показало, что детеныши рождаются без антител к SIV и приобретают их по достижении половозрелого возраста.

Продемонстрирована существенная разница в распространении инфекции

макак производственного стада, нежели более инфицированную группу, состоящую из *M. mulatta* (18%), в то время как среди *M. arctoides* вообще не были выявлены обезьяны с антителами против SRV.

Для определения возможности горизонтального распространения инфекции среди макак часть обезьян повторно тестировали через 2 года.

Таблица 1

SIV инфекция среди африканских зеленых мартышек, полученных из мест естественного распространения

Подвид	Страна-экспортер	Кол-во обследованных особей	Позитивные по данным ВВ
<i>S. a. aethiops</i>			
<i>S. a. aethiops</i>	Эфиопия	21	0
<i>S. a. pygerythrus</i>	Кения	47	8 (17%)
<i>S. a. pygerythrus</i>	Танзания	25	14 (56%)
Всего		93	22 (23%)

среди зеленых мартышек в местах естественного обитания (табл. 1). Интересно, что даже среди животных подвида *S. a. pygerythrus*, импортированных из Кении и Танзании, распространение инфекции значительно варьирует.

Были исследованы также 10 обезьян вида *M. mulatta* и 40 больных лимфомой обезьян вида *P. hamadryas* на наличие антител к SIV. Серопозитивных особей обнаружено не было.

При обследовании 28 макак резусов (*M. mulatta*), из которых первоначально позитивными были лишь 7 (25%), были обнаружены еще 6 серопозитивных обезьян (рис. 1). Сероконверсия произошла у обезьян, содержащихся в одной вольере. Аналогичным образом обследовали группу из 52 макак яванских (*M. fascicularis*), в которой за тот же период число серопозитивных особей увеличилось с 5 (10%) до 11 (21%). В этом

Таблица 2

SRV инфекция среди макак, содержащихся в питомниках НИИЭПит АМН СССР

Вид	Количество обследованных особей	Позитивные обезьяны
<i>M. mulatta</i>	372	68 (18%)
<i>M. nemestrina</i>	161	15 (9%)
<i>M. fascicularis</i>	369	47 (13%)
<i>M. arctoides</i>	34	0
<i>M. fuscata</i>	2	1

В течение последних лет были обследованы на наличие SRV инфекции 938 макак разных видов из производственного стада питомников НИИЭПит (рожденные в неволе, либо привезенные до 1985 года животные). Эти данные представлены в табл. 2. Среди

случае обезьяны, ставшие серопозитивными в период между двумя обследованиями, временно содержались в одной вольере, где и была зарегистрирована высокая степень инфицированности. Исходя из этих результатов прекращены пересадки обезьян



из вольеры в вольеру, что должно способствовать ограничению горизонтального распространения инфекции.

Принято считать, что спонтанная SRV инфекция распространяется только среди макак [4]. Однако, по результатам вскрытия группы погибших па-

сти сывороток были обнаружены антитела, перекрестно реагирующие с gp-20 и р 27 белками SRV. В то же время, при скринировании сывороток живых павианов гамадрилов, ни у одной обезьяны антител к ретровирусам D-типа обнаружено не было. Очевидно, для решения вопроса о причастности SRV к возникновению иммунодефицита у указанных павианов требуются дополнительные исследования.

Поступающих в НИИЭПит из мест естественного обитания макак (317 особей) последние годы тестировали непосредственно после привоза, до вступления в контакт с обезьянами основного стада. Данные, полученные при этих обследованиях, приведены в табл. 3. Процент инфицированности *M. fascicularis*, поступающих из Индонезии в последние годы, в три раза превышает среднюю инфицированность по основному стаду (38 и 13% соответственно). Для групп обезьян, поступавших из Индонезии в начале 80-х годов, эта величина была ниже и составляла 21%. Подобное возрастание инфицированности, возможно, отражает процесс более широкого распространения инфекции вирусами SRV в среде естественного обитания макак яванских. В то же время степень инфицированности *M. mulatta*, поступающих в питомники из Вьетнама, почти не изменилась в течение последних лет и соответствует уровню в основном стаде (17 и 18% соответственно).

Было прослежено распространение SRV инфекции в потомстве нескольких самцов (табл. 4). Анализ сыворо-

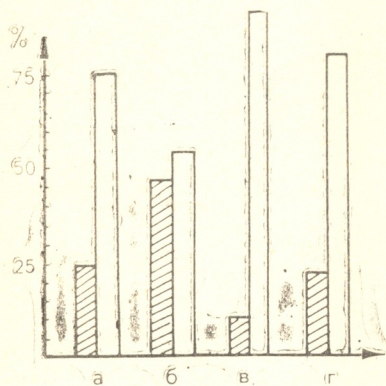


Рис. 1. Увеличение распространенности SRV инфекции среди макак постоянного стада: а — инфицированность *M. mulatta* при первичном обследовании; б — инфицированность в той же группе обезьян через два года; в — инфицированность *M. fascicularis* при первичном обследовании; г — инфицированность в той же группе обезьян через два года ■ — серопозитивные обезьяны; □ — серонегативные обезьяны; по оси ординат — уровень инфицированности животных, выраженный в процентах

вианов гамадрилов (*P. hamadryas*), возникло подозрение о наличии у них иммунодефицитного заболевания. Для изучения возможной причастности к

Таблица 3

SRV инфекция среди макак, вывезенных из мест естественного обитания

Вид	Страна обитания	Кол-во обсл. особей	Позитивные обезьяны
<i>M. mulatta</i>	Вьетнам	227	40 (17%)
<i>M. nemestrina</i>	Индонезия	24	2 (8%)
<i>M. fascicularis</i>	Индонезия	58	22 (38%)
<i>M. assamensis</i>	Вьетнам	8	1 (25%)

этому заболеванию ретровирусов D-типа были протестированы хранящиеся в замороженном состоянии сыворотки крови этих павианов. В ча-

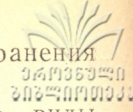
ток детенышей показал, что в потомстве серопозитивных самцов антитела к SRV инфекции распространены гораздо шире (у 64% обследованных

детенышей), чем в потомстве неинфицированных самцов (14%), что хорошо согласуется с литературными данными [1].

В результате проведенных исследований показано, что зеленые мар-

мест естественного распространения животных.

Установлено, что различные виды макак инфицированы вирусом SRV, причем инфекция не сопровождается патологией. Степень инфицированно-



Т а б л и ц а 4

Распространение SRV инфекции в потомстве серопозитивных и серонегативных самцов

№ самцов	Число серопозитивных из общего числа обследованных детенышей
Серопозитивные:	
15 419	16/22
13 982	6/10
12 036	6/14
В с е г о	28/44, или 64%
Серонегативные:	
12 672	3/9
16 173	3/15
7 944	2/10
17 498	3/15
14 002	0/4
13 998	0/3
В с е г о	11/76 или 14%

тышки бессимптомно инфицированы вирусом SIV. Уровень их инфицированности значительно варьирует в зависимости как от подвида, так и от

сти зависит от вида животных. Первые получены данные по SRV инфекции среди *M. mulatta*, обитающих во Вьетнаме.

#### ЛИТЕРАТУРА

1. Burnette W. N. *Analyt. Biochem.*, **112**, 195—203, 1981.
2. M. D. Daniel, N. L. Letvin, P. K. Sehgal, D. K. Schmidt, D. P. Silva, K. R. Solomon, F. S. Hodi, D. J. Ringler, R. D. Hunt, N. I. V. King, R. C. Desrosiers. *Int. J. Cancer*, **41**, 601—608, 1988.
3. M. D. Daniel, Yen li, Y. M. Naidu, P. J. Durda, D. K. Schmidt, C. D. Troup, D. P. Silva, J. J. Mackey, H. W. Kestler, P. K. Sehgal, N. W. King, Y. Ohta, M. Hayami, R. C. Desrosiers. *J. Virology*, **62**, 4123—4128, 1988.
4. B. M. Gardner, P. Lusiw, N. Lersche, P. Marx. *Advances in veterinary science and comparative medicine* **32**, 171—226, 1988.
5. H. S. Kwang, P. J. Barr, E. A. Sabin, S. Sujipto, P. A. Marx, M. D. Power, I. S. Bathurst, N. C. Pederson. *J. Virology*, **62**, 1774—1780, 1988.
6. Y. Ohta, T. Masuda, H. Tsujimoto, K. Ishikawa, T. Kodama, S. Morikawa, M. Nakai, S. Horjo, N. Hayami. *Int. J. Cancer*, **41**, 115—122, 1988.
7. S. Shiigi, B. Wilson, G. Leo, N. MacDonald, D. Toyooka, L. Hallick, R. Carty, M. L. Belozer, W. McNulty, J. Wolff, C. Howard, J. M. Axthelm, A. V. Bueren. *J. Med. Primatol.*, **18**, 185—193, 1989.
8. A. Spinner. S. Sutjipto. *Lab. Ani. Sci.*, **38**, 568—572, 1988.

ი. ხარაშვილი, ს. რეზიკიანი

ექსპერიმენტული პათოლოგიისა და თერაპიის ინსტიტუტი, სოხუმი

### რ ე ზ ი უ მ ე

ინსტიტუტის სანაშენებში მყოფი მაიმუნების SRV-რეტროვირუსებით ინფიცირება გაცილებით დაბალია, ვიდრე აშშ-ის პრიმატოლოგიურ ცენტრებში და მერყეობს 0%-დან (*M. arctoides*) 18%-მდე (*M. mulatta*), რაც დამოკიდებულია მაიმუნის სახეობაზე.

ამავე დროს, უკანასკნელი 5 წლის განმავლობაში ინდონეზიიდან შემოსულა *M. fascicularis* მაკაკებისათვის დაფიქსირებულია ინფიცირების მკვეთრი ზრდა

ბუნებრივი არსებობის ადგილებიდან ადრე შემოსულ მაიმუნებთან და ძირითად ჯოგთან შედარებით (38% და 13%).

ტანზანიიდან ჩამოყვანილ *C. pygerythrus*-ის მაიმუნებს ახასიათებდა SIV ინფიცირების უფრო მაღალი ხარისხი, ვიდრე ჩამოყვანილს კენიიდან (56% და 17%). არსებითი განსხვავება SIV ინფექციის გავრცელებაში დადგენილ იქნა *C. a. aethiops*-ის და *C. a. pygerythrus*-ის შორის (როგორც ძირითად ჯოგში, აგრეთვე ბუნებრივი არსებობის ადგილებშიც).

## THE SPREADING OF IMUNODEFFICIENCY VIRUS INFECTION AMONG THE IEPT MONKEYS

U. KHARASHVILI, S. REZIKYAN

Institute of Experimental Pathology and Therapy, Sukhumi

### S u m m a r y

The average rate of SRV infection in the IEPT is significantly lower than in some primatological centers of the USA, ranging from 0% (*M. arctoides*) to 19% (*M. mulatta*). At the same time the wild *M. fascicularis* are more infected than those in the IEPT (38% and 13%, respectively).

*C. a. pygerythrus* imported from Tanzania have higher degree of SIV infection than those from Kenya (56% and 17%, respectively). There are also differences in the rates of SIV infection between *C. a. aethiops* and *C. a. pygerythrus*, both in the wild and in the IEPT.

УДК 576.315

МОЛЕКУЛЯРНАЯ БИОЛОГИЯ

## КЛОНИРОВАНИЕ И ХАРАКТЕРИСТИКА ПОЛИ [(dG-dT) (dC-dA)] И ПОЛИ[dG-dA] (dC-dT)] ПОСЛЕДОВАТЕЛЬНОСТЕЙ ГЕНОМА *D. MELANOGASTER*

И. И. Габриадзе, Н. З. Мжавия, Н. Л. Трапаидзе, Р. П. Вашакидзе

*Институт молекулярной биологии и биофизики АН Грузии, Тбилиси*

Поступила в редакцию 15.05.91

Из геномной библиотеки *D. melanogaster* клонированы клоны GA-1 и pUT3-3, содержащие поли [(dG-dT) (dC-dA)] и поли[dG-dA] (dC-dT)] последовательности. Фаговый клон GA-1 содержит вставочную последовательность длиной 10 тысяч пар оснований (т. п. о.), а плазмидный клон pUT3-3 — 1,7 т. п. о. Построены рестрикционные карты по EcoRI, PstI, PvuII рестриктазам и в клонированных последовательностях локализованы простые гомополимерные последовательности.

Геном *D. melanogaster* содержит простые гомополимерные последовательности типа поли[(dG-dT) (dC-dA)], поли[(dA) (dT)], поли[(dG-dA) (dC-dT)] [3, 6, 10]. Короткие участки этих простых последовательностей (15—70 п. о.) диспергированы в геноме, активно транскрибируются и входят в состав РНК разной длины [6, 10]. Фрагменты ДНК, содержащие последовательности поли[(dG-dT) (dC-dA)] и поли[(dG-dA) (dC-dT)], могут принимать Z-форму при определенных условиях [7, 12]. Предполагается, что Z-ДНК могут контролировать локальную генную экспрессию и усиливать транскрипцию [5, 9].

Ранее нами была исследована интенсивность транскрипции отдельных цепей простых последовательностей поли[(dG-dT) (dC-dA)] и поли[dG-dA] (dC-dT)] в эмбрионах

*D. melanogaster*. Показано, что транскрипция поли[(dG-dA) (dC-dT)] симметрична, а поли[(dG-dT) (dC-dA)] транскрибируется асимметрично [2]. Также обнаружены ядерные белки с молекулярной массой 65—72 кДа, которые специфически связываются с поли [(dC-dT) (dC-dA)] последовательностями [4]. Было обнаружено, что последовательности поли[(dG-dA) (dC-dT)] разбросаны по геному в виде отдельных изолированных участков, а поли[(dG-dT) (dC-dA)] и поли[(dA) (dT)] кластеризуются в отдельных участках генома [1]. Целью настоящей работы являлось клонирование и анализ геномных фрагментов ДНК генома *D. melanogaster*, содержащих блоки простых последовательностей поли[(dG-dT) (dC-dA)] и поли[(dG-dA) (dC-dT)].

### МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ

Геномная библиотека *D. melanogaster* была сконструирована на основе неполного гидролиза геномной ДНК рестриктазой Sau3A и последующего лигирования фрагментов ДНК в BamHI — участок вектора λ47.1;

рассев фагов на нитроцеллюлозные фильтры проводили при умеренной плотности бляшек — 3—5 · 10<sup>3</sup> на чашку с диаметром 10 см [11]. Отбор фаговых клонов, содержащих простые последовательности, проводили гибри-

дизацией с  $P^{32}$ -мечеными гомополимерными последовательностями. В качестве зондов для гибридизации использовали синтетические простые последовательности поли[(dG—dT) (dC—dA)] фирмы Boehringer» и поли[(dG—dA) (dC—dT)] фирмы «Pharmacia». Гомополимерные последовательности метили ник-трансляцией. Гибридизацию проводили при 42°C в течение ночи в растворе: 50% формамида, 5 Денхарта [8], 4×SSC, и 0,01% ДДС—Na. Фильтры отмывали в растворе: 2 SSC, 0,1% ДДС—Na при 37°C.

Для выделения фаговой ДНК, 100 мкл суспензии фагов титром  $10^{10}$ — $10^{11}$  бляшек/мл добавляли к 2 мл клеток *E. coli* Dp50 (F<sup>+</sup>, tonA53, dapD8, lacY1, glnV44 (supE44), (gal—uvrB)47, tyrT58 (supF58), gyrA29, (thyA57), hsdS3) плотностью  $D_{540}=0,8$ , инкубировали 30 мин при 37°C, переносили в 100 мл среды L, содержащей 10 мМ MgCl<sub>2</sub> и 2 мл клеток Dp50, и оставляли на

ночь для интенсивной аэрации при 37°C. К полученному лизату добавляли NaCl до концентрации 4%, 20 мкг/мл ДНК-азы и 20 мкг/мл РНК-азы и оставляли на 2 ч при 37°C. Фаговые частицы собирали, добавляя сухой ПЭГ-6000 до концентрации 10%. Для получения фаговой ДНК суспензию фага депротенизировали несколько раз хлороформом, фаговые белки денатурировали ДДС—Na (0,5% ДДС—Na, 20 мМ ЭДТА, 20 мМ трис-HCl pH 8,0, 0,2 М NaCl). Повторную депротенизацию проводили фенолом. ДНК очищали диализом в буфере следующего состава: 10 мМ трис-HCl, pH 8,0; 1 мМ ЭДТА, 0,1 М NaCl.

ДНК фрагментов рекомбинантных фагов субклонировали в плазмиды рBR322 и рUC19. Гидролиз ДНК рестриктазами, электрофорез ДНК (в 1—2%-ных агарозных гелях) и перенос фрагментов ДНК на нитроцеллюлозные фильтры проводили по Манитису и др. [8].

## РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

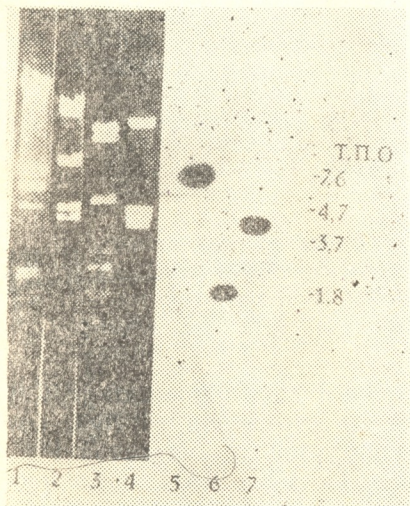


Рис. 1. Гибридизация фрагментов ДНК рекомбинантного фага GA-1 с меченой  $P^{32}$  поли[(dG—dA)(dC—dT)] последовательностью. ДНК фага GA-1 гидролизовали рестриктазами EcoRI, PstI и PvuII (2, 3, 4). Фрагменты ДНК разделяли электрофорезом в 1% агарозе и гибридизовали (5, 6, 7), ДНК фага  $\lambda$  гидролизована рестриктазами EcoRI и HindIII (1). Справа указана длина фрагментов ДНК в т. п. о.

Для исследования распределения простых последовательностей в геноме *D. melanogaster* мы гибридизировали геномную библиотеку с простыми последовательностями поли[(dG—dT) (dC—dA)], поли[(dG—dA) (dC—dT)] типов и изучили наиболее интенсивно гибридизующиеся клоны.

Поли[(dG—dT) (dC—dA)] гибридизуются с каждым пятым клоном при гибридизации примерно с 5 тыс. бляшек (около половины генома), а поли[(dG—dA) (dC—dT)] гибридизуются лишь с несколькими бляшками всей клонотеки. Было показано, что около 10% клонов библиотеки содержат последовательности поли[(dG—dT) (dC—dA)]. Для дальнейшего анализа были выбраны рекомбинантные фаги и проведено субклонирование фрагментов фагов в плазмидные векторы.

Рестрикционную карту фагового клона GA-1, содержащего поли[(dG—dA) (dC—dT)] последовательности, строили, используя рестриктазы EcoRI, PvuII и PstI. Рестрикционные фрагменты перенесли на нитроцеллюлозный фильтр и гибридизовали с меченой  $P^{32}$  поли[(dG—dA) (dC—dT)] последовательностью (рис. 1).

На рисунке выявляются как сильные, так и слабые сигналы гибридизации. Интенсивным сигналом гибридизации соответствуют: *EcoRI*, фрагмент длиной 7,6 т. п. о.; *PvuII*, фрагмент длиной 3,7 т. п. о. и *PstI*, фрагмент длиной 1,8 т. п. о. Слабые сигналы, по-видимому, обусловлены присутствием в данных фрагментах коротких участков гомологии с поли[(dG—dA) (dC—dT)] последовательностью. Для локализации поли[(dG—dA) (dC—dT)] последовательности в клонированном фрагменте ДНК дрожофилы все *PstI* фрагменты субклонировали в плазмиде pBR322 по *PstI* сайту. Гибридизацией отобранных субклонов P2, длиной 4,7 т. п. о. и P6 — 1,8 т. п. о. с меченной P<sup>32</sup> поли[(dG—dA) (dC—dT)] последовательностью было показано, что эти *PstI* фрагменты содержат поли[(dG—dA) (dC—dT)].

поли[(dG—dA) (dC—dT)] последовательности. На рис. 3а представлена рестрикционная карта субклона P2. Размеры фрагментов ДНК, образующихся при гидролизе ДНК клона GA-1 рестриктазами *EcoRI*, *PvuII* и *PstI*, сопоставляли с размерами фрагментов, образующихся при гидролизе ДНК субклона P2 теми же рестриктазами. Таким образом, оказалось возможным однозначно расположить сайты рестрикции и построить рестрикционную карту клона GA-1 (рис. 3б). На основе результатов гибридизации поли[(dG—dA) (dC—dT)] последовательность была локализована на карте клона GA-1 в *PstI* и *PvuII* фрагментах длиной 1,8 и 1,9 т. п. о. соответственно.

Ранее нами был получен фаговый клон GT-1, содержащий поли[(dG—dT) (dC—dA)] последовательность. ДНК фагового клона была субклонирована

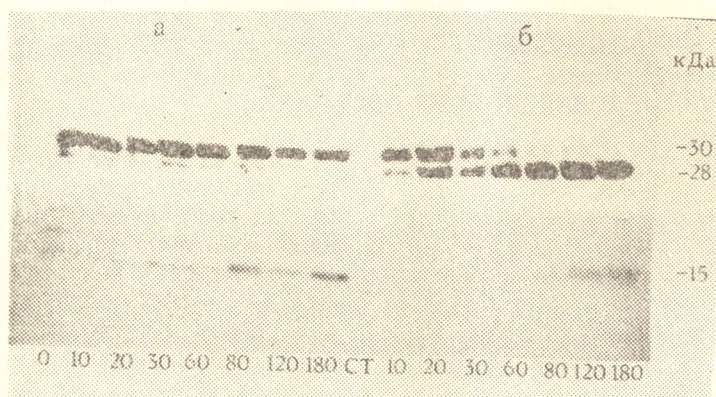


Рис. 2. Электрофорез фрагментов ДНК субклона P2, полученных в результате гидролиза рестриктазами: *EcoRI* (1), *PstI* (2), *PvuII* (5), и гибридизация с P<sup>32</sup> поли[(dG—dA) (dC—dT)] последовательностью (3, 4, 6). Цифрами обозначена длина фрагментов ДНК в т. п. о.

Для построения рестрикционной карты ДНК фага GA-1 по *EcoRI* и *PvuII* рестриктазам на первом этапе была построена рестрикционная карта субклона P2. Другой субклон P5 не содержит сайты рестриктаз *EcoRI* и *PvuII*. На рис. 2 представлены результаты гибридизации меченной P<sup>32</sup> поли[(dG—dA) (dC—dT)] последовательности с ДНК субклона P2, обработанной рестриктазами *EcoRI*, *PstI* и *PvuII*. Как видно из рис. 2, *EcoRI*, фрагмент с молекулярной массой 7,4 т. п. о., *PstI*, фрагмент — 4,7, т. п. о., и *PvuII*, фрагмент 1,9 т. п. о., содержат

на в *SmaI* сайт плазмиды pUC19 [11]. Один из субклонов pUT3-3, который гибридизуется с меченной P<sup>32</sup> поли[(dG—dT) (dC—dA)] последовательностью, охарактеризован нами детально.

Для определения длины вставочной последовательности субклона pUT3-3 был проведен гидролиз субклона рестриктазами *EcoRI* и *HindIII*, так как *SmaI* сайт полилинкера плазмиды pUC19 локализован между сайтами этих рестриктаз. В результате гидролиза были получены фрагменты следующих размеров: 1,2 т. п. о., 0,25

т. п. о., 0,23 т. п. о. и 0,15 т. п. о.; из этого следует, что размер вставочной последовательности равен 1,7 т. п. о. При обработке клона рUT3-3 рестриктазами EcoRI и HindIII образуют-

ределено расстояние между EcoRI сайтом полилинкера и ближайшим HindIII сайтом вставочной последовательности клона рUT3-3 — 150 п. о. На основании полученных данных

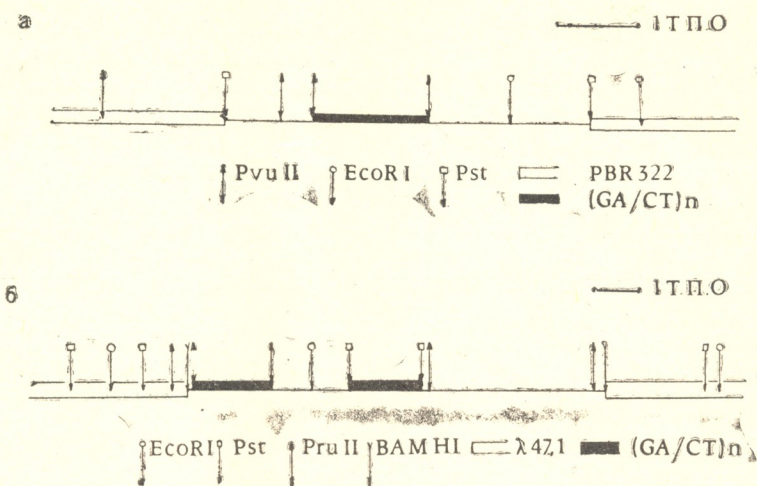


Рис. 3. Рестрикционная карта субклона р<sup>2</sup> (а) и клона GA-1 (б)

ся фрагменты длиной: 3,8 т. п. о., 0,2 т. п. о., 2,85 т. п. о., 1,4 т. п., 0,2 т. п. о. соответственно. Для установления ориентации сайтов рестриктаз HindIII и EcoRI в вставочной последовательно-

удалось установить расположение сайтов рестриктаз HindIII и EcoRI в

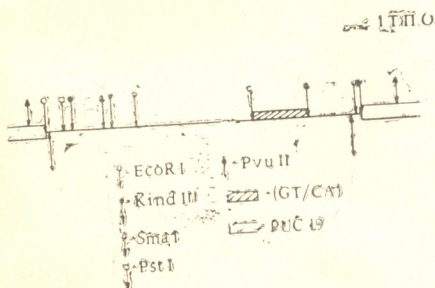


Рис. 4. Рестрикционная карта клона рUT 3-3

сти субклон рUT3-3 обрабатывали отдельно рестриктазой HindIII; рестриktированный материал лигировали T4-лигазой E. coli. В результате делеции двух HindIII фрагментов (длиной 1,4 т. п. о. и 0,2 т. п. о.) из клона рUT3-3 был получен клон T3-Н. Клон T3-Н имеет сайт рестриктазы EcoRI только в участке полилинкера плазмиды. Было оп-

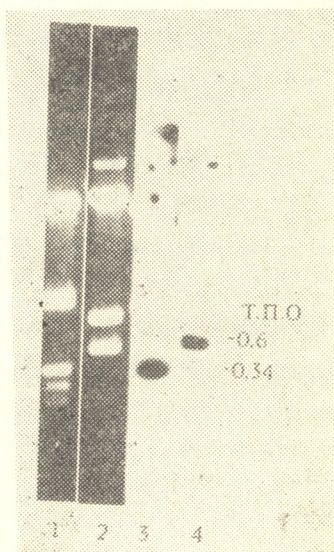


Рис. 5. Гибридизация фрагментов ДНК клона рUT3-3 с P<sup>32</sup> меченной поли [(dG—dT)(dC—dA)] последовательностью. ДНК клона гидролизовали рестриктазами: PstI—PvuII(1), PstI—HindIII (2); фрагменты разделяли электрофорезом в 2%-ной агарозе и гибридизировали (3,4). Справа указана длина фрагментов ДНК в т. п. о

Таблица 1  
Результаты рестрикционного анализа клона  
pUT3-3

№	Рестриктаза	Размер фрагментов, т. п. о.
1	PvuII	2,4; 1,0; 0,5; 0,4
2	PstI	2,8; 0,9; 0,6
3	HindIII—PstI	2,8; 0,7; 0,6; 0,2
4	HindIII—PvuII	2,4; 1,0; 0,3 0,3; 0,2

вставочной последовательности pUT3-3 клона (рис. 5). Далее субклон pUT3-3 обработали рестриктазами PstI, PvuII, HindIII—PstI и HindIII—PvuII и определили размеры полученных фрагментов (табл. 1). На основании всех результатов была построена рестрикционная карта pUT3-3 субклона (рис. 4).

Для установления локализации про-

стой последовательности поли[(dG—dT) (dC—dA)] в субклоне pUT3-3 проводили гибридизацию меченой  $P^{32}$  поли[(dG—dT) (dC—dA)] последовательности с PstI—HindIII и PstI—PvuII фрагментами субклона (рис. 4). Из рисунка видно, что с поли[(dG—dT) (dC—dA)] последовательностью гибридизуются фрагменты: PstI—PvuII, длиной 340 п.о. и PstI—HindIII, длиной 0,6 т.п.о. Сопоставляя результаты гибридизации и размеры рестрикционных фрагментов, установили локализацию поли[(dG—dT) (dC—dA)] последовательности в субклоне — в фрагменте длиной 340 п.о., между PstI и PvuII сайтами (рис. 5).

Полученные в данной работе результаты будут использованы нами для изучения последовательностей, прилегающих к гомополимерным последовательностям *D. melanogaster*.

ЛИТЕРАТУРА

1. Вашакидзе Р. П., Мамулашвили Н. А., Каландаришвили К. Г., Колчинский А. М., Заалишвили М. М. Мол. биол., 22, 1599—1603, 1988.
2. Вашакидзе Р. П., Мамулашвили Н. А., Каландаришвили К. Г., Колчинский А. М. Мол. биол., 23, 315—319, 1989.
3. Вашакидзе Р. П., Прангишвили Д. А. ДАН СССР, 293, 1243—1245, 1987.
4. Вашакидзе Р. П., Челидзе М. Г., Мамулашвили Н. А., Каландаришвили К. Г., Цалкаламанидзе Н. В. Мол. биол., 22, 700—705, 1988.
5. Greaves D. R., Patient R. K. J. Biol., 185, 461—478, 1985.
6. Hamada H., Petrino M. G., Kupağa T. Moll Cell. Biol., 4, 2610—2621, 1984.
7. Lafer E. M., Sousa Ruo R. A. J. Biol. Chem., 261, 6438—6443, 1986.
8. Maniatis T., Fritsch E. E., Sambrook J. Molecular cloning, Cold Spring Harbor Laboratory, 1982.
9. Nordheim A., Rich A., Wang A. H. J. Annu. Rev. Biochem., 53, 791—846, 1984.
10. Tautz D., Renz M. J. Mol. Biol., 172, 229—235, 1984.
11. Vashakidze R., Mamulashvili N., Gabriadze I., M. Zaalishvili M., Kolchinsky A. Georgian Acad. of Sci., Preprint, 1990.
12. Viegas-Pequignat, Malifou B., Leng M. Cytogenet. Cell. Genet., 42, 105—111, 1986.

D. MELANOGASTER-ის გენომის POLY[(dG—dT)(dC—dA)] და POLY[(dG—dA)(dC—dT)] თანმიმდევრობების კლონირება და დახასიათება

ი. გაბრიამე, ნ. მუჰამედი, ნ. ტრაპანიძე, რ. ვაშაკიძე

საქართველოს მეცნიერებათა აკადემიის მოლეკულური ბიოლოგიის და ბიოლოგიური ფიზიკის ინსტიტუტი, თბილისი

რ ე ზ ი უ მ ე

*D. melanogaster*-ის გენომური ბიბლიოთეკიდან ამორჩეულია poly[(dG—dT) (dC—dA)] და poly[(dG—dA)(dC—dT)] თანმიმდევრობების შემცველი კლონები: GA-1 და pUT3-3. ფაგური კლონი GA-1 შეიცავს 10 ა. ნ. წ., პლაზმიდური კლონი

pUT3-3 კი — 1,7 ა. ნ. წ. სიგრძის ჩანართს. რესტრიქციული რუქები აგებულია EcoRI, PstI, და PvuII რესტრიქტაზებისათვის და კლონირებულ თანმიმდევრობებში ლოკალიზირებულია მარტივი ჰომოპოლიმერული თანმიმდევრობები.



CLONING AND CHARACTERIZATION OF POLY[(dG—dT)(dC—dA)]  
AND POLY [(dG—dA)(dC—dT)] SEQUENCES FROM  
D. MELANOGASTER GENOME



I. GABRIADZE, M. MZHAVIA, N. TRAPAI DZE, R. VASHAKIDZE

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

S u m m a r y

From genomic library of *D. melanogaster* were obtained the clones GA-1 and pUT3-3, that contain poly[(dG—dT)(dC—dA)] and poly[(dG—dA)(dC—dT)] sequences, respectively. Phage clone GA-1 contains insert sequence of 10kb, plasmid clone pUT3-3—1.7kb. Restriction maps for EcoRI, PoII were constructed and localized simple homopolymer sequences in the cloned sequences.

### სატორთა საპუბლიკაციო

1. ეურნალში იბეჭდება დასრულებული ექსპერიმენტული და თეორიული ხასიათის ორი-გინალური ნაშრომები ბიოლოგიის დამტკიცებული დარგების მიხედვით; მიმოხილვითი სტატიები, მომზადებული რედაქციის შეკვეთით; მოკლე წერილები და რეკენზიები. ეურნალში ქვეყნდება ჩატარებული სამეცნიერო-საორგანიზაციო ღონისძიებების ქრონიკა.

2. **ექსპერიმენტული ნაშრომების მოცულობა** ცხრილებით, ნახატებით, ნახატების ქვეწარწერებით, ლიტერატურის სიითა და რეზიუმეებით რუსულ და ინგლისურ ენებზე არ უნდა აღემატებოდეს ორი ინტერვალით დაბეჭდილ მარცხენა ველიდან 3 სმ დაცილებით) 12 გვერდს. ნახატების ჩაბეჭდვა არ უნდა აღემატებოდეს 5-ს. მიმოხილვითი სტატიის მოცულობა დასაშვებია 24 გვერდამდე, მოკლე წერილისა — 4 გვ. მოკლე წერილს შეიძლება დაერთოს 1—2 ნახატი.

**რეზიუმე რუსულ და ინგლისურ ენებზე** (არ უნდა აღემატებოდეს ერთ გვერდს), ლიტერატურის სია, ცხრილები და ნახატების ქვეწარწერები წარმოდგენილი უნდა იყოს ცალცალკე ფურცლებზე.

3. დედანს (ორ ეგზემპლარად) თან უნდა ერთვოდეს დაწესებულების მიმართვა და საექსპერტო კომისიის დასკვნა. პირველ გვერდზე მარცხნივ უნდა ეწეროს უკუის ინდექსი, მარჯვნივ — ბიოლოგიის დარგი, შემდეგ სტატიის დასახელება, ავტორების ინიციალები და გვარები, იმ დაწესებულების დასახელება, სადაც შესრულდა ნაშრომი, და მოკლე ანოტაცია (0,5 გვერდი). სტატიას ხელს აწერს ყველა ავტორი. სტატიის ბოლოს სრულად უნდა იყოს აღნიშნული ავტორთა სახელი, მამის სახელი და გვარი, ბინისა და სამსახურის მისამართი და ტელეფონის ნომერი.

4. სტატია უნდა შეიცავდეს შესავალს, მეთოდისა, კვლევის შედეგებს და შედეგების განხილვას.

5. **ილუსტრაციები** — მკაფიო ფოტოები, ნახატი გრაფიკები, შესრულებული თვით ქაღალდზე ან კალკზე, წარმოდგენილი უნდა იქნეს ორ ეგზემპლარად. ილუსტრაციებზე წარწერები შესრულებული უნდა იყოს ტუშით. ილუსტრაციის უკანა მხარეს ფანქრით აღნიშნული უნდა იყოს მისი ნომერი, ავტორის გვარი და სტატიის შემოკლებული დასახელება (აუცილებლობის შემთხვევაში აღინიშნოს ზემო და ქვემო მხარეები).

6. ციტირებულ ავტორების გვარები ტექსტში მოყვანილი უნდა იყოს სტატიის შესავალის მისი ტრანსკრიფციით, ლიტერატურის სიაში კი — ორიგინალური ტრანსკრიფციით. ლიტერატურის სია დგება ანბანის მიხედვით შემდეგი თანამიმდევრობით: ქართული, რუსული, ლათინური.

რიგითი ნომრის (ტექსტში იგი კვადრატულ ფრჩხილებშია) შემდეგ მოყვანილი უნდა იქნეს ავტორის გვარი და ინიციალები, გამოცემის დასახელება; პერიოდული გამოცემებისათვის — ტომი, ნომერი, გვერდები, წელი, არაპერიოდულისათვის — გამოცემის დასახელება, გამოცემის ადგილი, წელი და გვერდები.

7. ხელნაწერები, რომელშიც არ არის დაცული აღნიშნული წესები და რომლებიც არ შეესაბამება ეურნალის პროფისს, უბრუნდება ავტორს. ყველა სტატია იგზავნება სარეკენზიოდ.

8. სტატიების კორექტურის გასწორებისას დამატებითი ცვლილებების შეტანა ტექსტში დაუშვებელია.

9. რედაქცია იტვებს უფლებას შეამციროს და შეასწოროს სტატიის ტექსტი.

### 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 краткая хроника о проведённых научно-организационных мероприятиях.

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

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

3. 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.).

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

4. Статья должна содержать введение, методику, результаты исследований и обсуждение результатов.

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

6. Фамилии цитируемых авторов следует давать в транскрипции, соответствующей тексту статьи в оригинальной — в списке литературы. **Список литературы составляется по алфавиту** — вначале грузинским 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 **непериодических** — название издательства, место, год издания и страницы.

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

8. **Корректур** статей даются авторам для проверки, правки и визирования. Дополнительные изменения в тексте не допускаются.

9. **Редакция** оставляет за собой право сокращать и исправлять тексты статей.

Индекс 76204

Ур 16/3



№ 1665 Изр АН Голландии сер. биологическая, 1902 г. И. И. И.