

1893/
1975/2



საქართველოს სსრ მეცნიერებათა აკადემიის მაცნე

ИЗВЕСТИЯ АКАДЕМИИ НАУК ГРУЗИНСКОЙ ССР
PROCEEDINGS OF THE ACADEMY OF SCIENCES
OF THE GEORGIAN SSR

BIOLOGICAL SERIES

ბიოლოგიის
სერია
СЕРИЯ
БИОЛОГИЧЕСКАЯ

1975 № 2 •

თბილისი
ТБИЛИСИ
TBILISI

სტატი
TOM
VOL.



СПИСОК РАЗДЕЛОВ БИОЛОГИИ,
ПО КОТОРЫМ ПРИНИМАЮТСЯ СТАТЬИ

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

საქართველოს სსრ მეცნიერებათა აკადემიის მაცნე
ИЗВЕСТИЯ АКАДЕМИИ НАУК ГРУЗИНСКОЙ ССР



ბიოლოგიის სერია СЕРИЯ БИОЛОГИЧЕСКАЯ

ტომი 1, № 2
Том

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

62621

გამომცემლობა „მეცნიერება“ • თბილისი • 1975
ИЗДАТЕЛЬСТВО „МЕЦНИЕРЕБА“ • ТБИЛИСИ • 1975

კ. სარჯის ს. ა. ს. სსრ
ს. ხ. მ. შიშოვი
პ. ა. ლომიძე

© Известия АН ГССР
Серия биологическая, 1975

სარედაქციო კოლეგია:

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

ლ. გაბუნია, ს. დურმიშიძე, შ. ზალიშვილი, გ. თუმანიშვილი, ი. თუმაჩანოვი,
გ. კანდელაკი, ნ. კეცხოველი, კ. ნადარეიშვილი, პ. კომეთიანი, ბ. ყურაშვილი,
ნ. ძიძიშვილი, თ. ჭანიშვილი, შ. ჭანიშვილი, ნ. ჭავჭავაძე
პასუხისმგებელი მდივანი ლ. სარქიანი

РЕДАКЦИОННАЯ КОЛЛЕГИЯ:

Главный редактор В. М. Окужава
Зам. главного редактора Т. Н. Онiani
Ученый секретарь Г. Л. Бекаия
Л. К. Габуния, Н. А. Джавахишвили, Н. Н. Дзидзишвили, С. В. Дурмишидзе,
М. М. Заалишвили, Г. В. Канделаки, Н. Н. Кецохели, П. А. Кометиани,
Б. Е. Курашвили, К. Ш. Надарейшвили, И. И. Тумаджанов, Г. Д. Туманишвили,
Т. Г. Чанишвили, Ш. Ф. Чанишвили
Ответственный секретарь Л. Н. Саркисян

EDITORIAL BOARD:

Editor-in-Chief V. M. Okujava
Associate Editor T. N. Oniani
Editorial Secretary G. L. Bekaiia
Sh. F. Chanishvili, T. G. Chanishvili, N. A. Djavakhishvili, S. V. Durmishidze,
N. N. Dzidzishvili, L. K. Gabunia, G. V. Kandelaki, N. N. Ketskhoveli,
P. A. Kometiani, B. E. Kurashvili, K. Sh. Nadareishvili, I. I. Tumajanov,
G. D. Tumanishvili, M. M. Zaalishvili
Executive Secretary L. N. Sarkisian

СОДЕРЖАНИЕ შიხსარსი CONTENTS

T. K. Ioseliani, M. S. Khomeriki, T. B. Gloveli. Исследование влияния мезэнцефалической ретикулярной формации на вызванные следовые разряды	109
თ. იოსელიანი, მ. ხომერიკი, თ. გლოველი. გამოწვეულ კვალის განმუხტვებზე მენენცეფალური რეტკულური ფორმაციის გავლენის შესწავლა	
T. K. Ioseliani, M. S. Khomeriki, T. B. Gloveli. Influence of mesencephalic reticular formation on induced afterdischarges	
M. V. Keshelava. Влияние электролитического повреждения головки хвостатого ядра на условнорефлекторную деятельность и цикл бодрствования—сон	117
მ. კეშელავა. კუდიანი ბირთვის თავის ელექტროლიტური დაზიანების გავლენა კატეხის პირობით-რეფლექსურ მოქმედებაზე და ძილ-ღვიძილის ციკლზე	
M. V. Keshelava. Caudate nucleus lesion effects on the conditioned reflex activity and wakefulness-sleep cycle in cats	
Z. V. Kobakhidze, A. P. Zakaraia. О специфических особенностях действия некоторых высокочастотных физических факторов на ткани	126
ზ. კობახიძე, ა. ზაქარაია. მაღალი სიხშირის ზოგერთი ფიზიკური ფაქტორის ცოცხალ ქსოვილებზე სპეციფიური მოქმედების თავისებურებების შესახებ	
Z. V. Kobakhidze, A. P. Zakaraia. On the specific peculiarities of the action of some high-frequency physical factors on living tissues	
K. I. Tsintsadze, Yu. B. Shapata a. Активность Na^+ , K^+ АТРазы и K^+ -паранитрофенилфосфатазы в сердечной мышце собаки при ишемической и строфантиновой фибрилляций желудка	135
კ. ცინცაძე, ი. შაპათაეა. Na^+ , K^+ ატფაზისა და K^+ -პარანიტროფენილფოსფატაზის აქტიუობა ძაღლის გულის კუნთში იშემიური და სტროფანტინული პარკუტოთა ფიბრილაციის დროს	
K. I. Tsintsadze, Yu. B. Shapata a. Activity of cardiac Na^+ , K^+ -stimulated ATPase and K^+ -paranitrophenylphosphatase in ischemic and strophanthine—K fibrillations of ventricles in dogs	
T. D. Klimiashvili, G. D. Tumanishvili. О механизме «пуска» гастрюляции	142
თ. კლიმიანიშვილი, გ. თუმანიშვილი. გასტრულაციის „გამწვები“ მექანიზმების შესწავლისათვის	
T. D. Klimiashvili, G. D. Tumanishvili. Study of gastrulation “triggering” mechanism	
O. D. Nemsadze, T. M. Neparidze. Электронномикроскопические исследования репаративной регенерации дефектов кости нижней челюсти после применения микроэлементов кремния и фтора	148
ო. ნემსაძე, თ. ნეფარიძე. ქვედაჯვბის დეფექტების ოსტეოგენეზზე მიკროელემენტების სილიციუმისა და ფტორის გავლენის ელექტრონომიკროსკოპული დახასიათება	
O. D. Nemsadze, T. M. Neparidze. Electron microscopic characteristics of osteogeny of osseous tissue defects on lower jaw under the action of tracers: silicon and fluorine	
G. I. Kvetsadze, Z. V. Tohadze, M. Sh. Davali, C. P. Bregvadze, T. Ya. Fraikiina. Имобилизация глюкоамилазы на силикатных носителях	151

- ბ. ქვესიტაძე, ზ. თოხაძე, მ. დვალი, ც. ბრეგვაძე, ტ. ფრაიკიანი.
 გლუკოამილაზის იმობილიზაცია სილიკატურ მატარებლებზე
- G. I. Kvesitadze, Z. V. Tokhadze, M. Sh. Dvali, Ts. R. Bregvadi, T. J. Fraikina. Immobilization of glucoamylase on silicon carriers
- A. O. Chilingarov, N. N. Melitauri, V. N. Chikvaidze. Изменение уровня циклической адениловой кислоты в головном мозгу при аминокислотных нагрузках
- ა. ჩილინგაროვი, ნ. მელიტაური, ვ. ჩიკვაიძე. ამინომჟავებით დატვირთვისას თავის ტვინში ადენილის მჟავის რაოდენობის ცვლილება
- A. O. Chilingarov, N. N. Melitauri, V. N. Chikvaidze. The changes produced by amino acids in the level of cyclic 3', 5'-AMP in the brain
- Л. А. Эдилашвили, Н. В. Гвалия. Материалы по идентификации соединений нервной ткани, экстрагируемых подкисленными липорастворителями после удаления липидов
- ლ. ედილაშვილი, ნ. გვალია. მასალები, ლაბიდეზმოცილებული ნერვული ქსოვილის ნაერთების იდენტიფიკაციის შესახებ შემკავებული ლიპოგამსხნელებით
- L. A. Edilashvili, N. V. Gvalia. Some evidence on identification of compounds of nervous tissue, extracted by acidified lipid solvents after lipid removal
- T. G. Chanishvili, J. S. Kapanadze, Z. I. Alavidze, M. A. Darsavelidze. Complementations of rII and am-мутантов фага DDVI со стандартными маркерами фага T4B
- თ. ქანიშვილი, ე. კაპანაძე, ზ. ალავიძე, მ. დარსაველიძე. DDVI ფაგის rII და am მუტანტების კომპლემენტაცია T4B ფაგის სტანდარტულ მარკერებთან
- T. G. Chanishvili, J. S. Kapanadze, Z. I. Alavidze, M. A. Darsavelidze. Complementations of rII and am mutants of phage DDVI with standard markers of phage T4B
- К. Ш. Надарейшвили, Н. Б. Шарашенидзе, М. М. Джанджгава, О. И. Санеблидзе, М. Н. Хурция. Гемодинамические сдвиги при молниеносной лучевой болезни у кроликов
- კ. ნადარეიშვილი, ნ. შარაშენიძე, მ. ჯანჯღავა, ო. სანებლიძე, მ. ხურცია. პემოლინამიკური ძვრები უმწვევესი სხივური დაავადების დროს შინაურ კურდღლებში
- K. Sh. Nadareishvili, N. B. Sharashenidze, M. M. Janjgava, O. I. Saneblidze, M. N. Khurtsia. Hemodynamic changes during superacute radiation sickness in rabbits
- З. П. Кометиани, Т. Я. Джариашвили. Эффект нейрогормонов на Na, К-АТФазную систему
- ზ. ქომეთიანი, თ. ჯარიაშვილი. Эффеკტი ნეიროგორმონების ნა, კ-ატფაზურ სისტემაზე
- Z. P. Kometiani, T. J. Jariashvili. Effect of neurohormones on Na, K-ATPase system
- A. A. Dzneldadze. Образование гуминоподобного вещества грибом *Phoma tracheiphila* в культуре и его оптические параметры
- ა. ძნელაძე. სოკო *Phoma tracheiphila*-ს მიერ კულტურაში გუმისმაგარი ნივთიერების წარმოქმნა და მისი ოპტიკური პარამეტრები
- A. A. Dzneldadze. The humic substance production in culture by *Phoma tracheiphila* and its optical parameters
- Хроника 200

УДК 612.826.4

ФИЗИОЛОГИЯ ЧЕЛОВЕКА И ЖИВОТНЫХ

ИССЛЕДОВАНИЕ ВЛИЯНИЯ МЕЗЭНЦЕФАЛИЧЕСКОЙ РЕТИКУЛЯРНОЙ ФОРМАЦИИ НА ВЫЗВАННЫЕ СЛЕДОВЫЕ РАЗРЯДЫ

Т. К. Иоселиани, М. С. Хомерики, Т. Б. Гловели

Институт физиологии АН ГССР, Тбилиси

Поступила в редакцию 28.1.1975

На взрослых кошках в условиях острого эксперимента исследовались эффекты инъекции адреналина и роstralной перерезки среднего мозга на вызванные разряды последействия. Разряды последействия вызывались электрическим раздражением гиппокампа, прозрачной перегородки и миндалевидных ядер. Показано, что малые дозы адреналина, введенного в МРФ (с помощью живленного хемитрода), вызывают подавление вызванной судорожной активности: порог электрического раздражения для вызова разрядов последействия повышается. Такой же эффект оказывало внутривенное введение адреналина на разряды последействия, хотя подавление этих разрядов было выражено слабее. Роstralная перерезка МРФ приводила к противоположному эффекту: порог разрядов последействия понижался. Внутривенное введение адреналина после перерезки МРФ не оказывало угнетающего влияния на возникновение разрядов последействия. Полученные результаты свидетельствуют о тормозящем влиянии МРФ на вызванную судорожную активность головного мозга.

Судорожные реакции, по данным литературы, возникают легче и протекают сильнее на фоне синхронной активности головного мозга, т. е. когда в электроэнцефалограмме доминируют высоковольтные медленные волны. Десинхронизация электрической активности затрудняет возникновение эпилептиформных разрядов. Так, исследованиями на животных [1] показано, что эпилептиформные разряды, возникающие в первичных и вторичных очагах судорожной активности, созданных внесением алюминиевой пасты в гиппокамп или прозрачную перегородку, подавлялись, а порой полностью исчезали во время «активного бодрствования», когда электрическая активность головного мозга максимально десинхронизирована. В период же медленного сна, с наступлением синхронизации ЭЭГ, наблюдалось учащение и усиление эпилептиформных разрядов как в первичных, так и вторичных очагах. Аналогичным образом меняются и те судорожные разряды, которые вызваны электрическим раздражением эпилептогенных структур головного мозга. Так, по данным Эрнандес-Пеон и Гуерреро-Фигуероа [1], разряды последействия, возникающие в ответ на электрическое раздражение ядер миндалевидного комплекса, слабее протекают при бодрствовании кошки, когда электрическая активность головного мозга десинхронизирована. Во время же медленного сна, когда в ЭЭГ доминируют высоковольтные медленные потенциалы, аналогичное раздражение вызывает более сильный разряд последействия. В опытах Т. К. Иоселиани и др. [4] показано, что порог электрического разряда



жения дорсального гиппокампа для вызова разряда последействия значительно выше во время бодрствования кошки и в парадоксальной фазе сна, чем в фазе медленного сна.

С полученными на животных экспериментальными данными хорошо согласуются клинические наблюдения на людях, по которым эпилептиформные разряды у больных чаще возникают и усиливаются во время сна и почти полностью исчезают при концентрации их внимания на решении какой-нибудь задачи [9, 1, 13, 15].

Исходя из того, что бодрствующее состояние и десинхронизация электрической активности головного мозга поддерживаются тоническим влиянием «восходящей активирующей системы» ретикулярной формации среднего мозга [14], было выдвинуто предположение, что изменение порога возникновения судорожных реакций должно зависеть от уровня активации МРФ. Это предположение подкрепляется теми фактами, что предварительное раздражение МРФ угнетает эпилептиформные разряды последействия, возникающие в ответ на раздражение миндалевидного комплекса [11] и дорсального гиппокампа [7]. Подавление эпилептиформных следовых разрядов наблюдается и при активации МРФ малыми дозами адреналина, введенного в эту область с помощью предварительно вживленного хемитрода [8].

Эффекты выключения активности МРФ на судорожные реакции исследованы меньше. В литературе встречаются данные об усилении судорожной активности после электролитического повреждения областей МРФ [10, 16]. Однако при применении этого метода трудно судить о степени и объеме повреждения МРФ. В настоящей работе выключение восходящего ретикулярного влияния осуществлялось путем перерезки МРФ на уровне ее ростральной границы.

МЕТОДИКА

Опыты ставились на взрослых ненаркотизированных кошках в условиях острого эксперимента. Животные оперировались под эфирным наркозом. Металлические биполярные электроды (изготовленные из константановых проволочек с фабричной изоляцией) вживлялись стереотаксически в следующие структуры головного мозга: дорсальные и вентральные отделы гиппокампа, прозрачную перегородку, ядра миндалевидного комплекса. Поверхностные электроды располагались в зад-

ней части латеральной извилины коры. В некоторых опытах в ретикулярную формацию среднего мозга дополнительно вживлялся хемитрод. Вживление глубинных электродов и хемитрода осуществлялось по координатам из атласа Джаспера и Аймонэ-Марсана [12].

Активирование ретикулярной формации вызывалось введением малых доз адреналина либо непосредственно в МРФ, либо внутривенно. С целью выключения восходящего влияния активирующей системы на вышерасположенные структуры, в ходе опыта производилась перерезка МРФ на уровне верхней границы специальным ножом, вживленным стереотаксически (рис. 1).

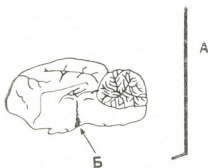


Рис. 1. Схема сагиттального среза головного мозга кошки (по Оксу). А—нож для перерезки МРФ; Б—место перерезки МРФ

Эпилептиформные разряды последействия вызывались раздражением вентрального гиппокампа, ядер миндалевидного комплекса или



прозрачной перегородки. Вызванные разряды последствия регистрировались двухлучевым катодным осциллографом («Амплиор-11») и четырехканальным электроэнцефалографом (4ЭЭГ-3). После каждого опыта на срезах головного мозга проверялась точность перерезки МРФ и локализации неизолированных кончиков электродов.

РЕЗУЛЬТАТЫ ОПЫТОВ

В соответствии с уже известными данными при раздражении гиппокампа электрическим током умеренной интенсивности возникают эпилептиформные разряды последствия, которые ограничиваются раздражаемой структурой и не распространяются на другие области головного мозга. С увеличением интенсивности раздражения усиливается следовой разряд и расширяется область его распространения: судорожные разряды охватывают все отделы гиппокампа, переходят на контралатеральную одноименную структуру, вовлекают ядра миндалевидного комплекса и под конец распространяются на другие подкорковые и корковые области, принимая таким образом генерализованный характер. В случае достаточно сильного раздражения прозрачной перегородки судорожная активность возникает почти одновременно в вентральном и дорсальном отделах гиппокампа, хотя в последнем она протекает значительно сильнее. Если электрическое раздражение наносится на ядра миндалевидного комплекса, то судорожные разряды в первую очередь возникают в вентральном гиппокампе, а потом распространяются и на дорсальный гиппокамп.

Введение малых доз адреналина непосредственно в МРФ значительно влияет на вызванную судорожную активность, независимо от источника ее возникновения. На рис. 2 представлен один из таких опытов. Пятисекундное раздражение миндалевидного комплекса вызывает эпилептиформный следовой разряд как в дорсальном, так и вентральном отделах гиппокампа (А). Вначале они сильнее в вентральном гиппокампе (А). Однако с усилением пароксизмальных разрядов в дорсальном гиппокампе происходит их ослабление в вентральном (Б). Общая длительность судорожной активности примерно 50 сек, причем она быстрее заканчивается в дорсальном отделе гиппокампа (Г). На последней осциллограмме (Д) представлен эффект раздражения миндалевидного комплекса после введения малых доз адреналина (~2 мкг) в ипсилатеральную МРФ. Видно, что инъекция адреналина подавляет следовой разряд: последний возникает лишь в вентральном гиппокампе в виде нескольких слабых колебаний потенциала.

Аналогичное влияние оказывает инъекция адреналина в МРФ на судорожную активность, вызванную раздражением гиппокампа или прозрачной перегородки.

В последующей серии опытов изучалось влияние перерезки МРФ на следовые разряды. В этих опытах введение адреналина непосредственно в МРФ было затруднено, так как вживленный хемитрод не давал возможности манипулировать ножом для перерезки мозга. Поэтому в данной серии опытов адреналин вводился в организм через вену. По данным прежних работ [5], адреналин, введенный в вену, оказывает на разряды последствия такое же влияние, как при его инъекции непосредственно в МРФ, хотя в последнем случае разряды последствия подавляются сильнее.

На рис. 3 представлены эффекты раздражения вентрального гиппокампа до и после перерезки МРФ. Как видно, умеренное раздражение этой структуры вызывает непродолжительный следовой разряд (30 сек) в дорсальном гиппокампе (рис. 3, А, Б). Последующие электроэнцефалограммы зарегистрированы через 30 минут после полной перерезки МРФ. Раздражение вентрального гиппокампа (парамет-

ры раздражения те же, что в опытах А и Б) в этих случаях вызывает значительно сильный и длительный (до двух минут) разряд последей-

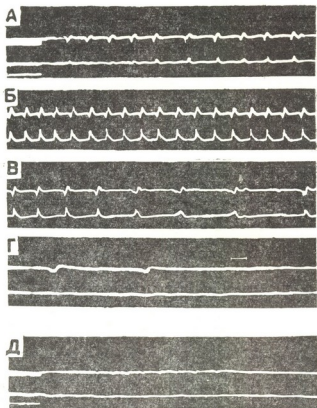


Рис. 2. Влияние инъекции адреналина в МРФ на разряды последействия. Регистрируются: дорсальный гиппокамп (нижняя запись) и вентральный гиппокамп (верхняя запись). Прямые линии под кривыми указывают на окончания 5-секундных раздражений (Зв, 100 ударов в сек) ядер миндалевидного комплекса до (А) и после (Д) введения адреналина, калибровка—120 мсек

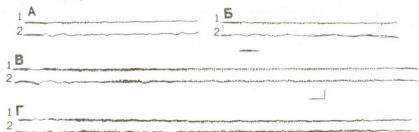


Рис. 3. Изменение разрядов последействия после перерезки МРФ. Регистрируются: 1—дорсальный гиппокамп, 2—ядра миндалевидного комплекса. Линии под ЭЭГ указывают на 5-секундные раздражения (1,5в, 50 ударов в сек) вентрального гиппокампа до (А, Б) и после (В, Г) перерезки МРФ, калибровка—5 сек, 60 мкв

ствия в обеих регистрируемых структурах (рис. 3, В, Г). На рис. 4 представлены эффекты раздражения вентрального гиппокампа до и

после внутривенного введения малых доз адреналина. Видно, что пятисекундное раздражение вентрального гиппокампа (2 в, 100 ударов в секунду) вызывает хорошо выраженную судорожную активность в ипсилатеральных ядрах миндалевидного комплекса и дорсальном гиппо-

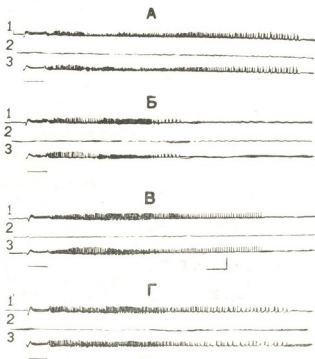


Рис. 4. Влияние внутривенного введения малых доз адреналина на разряды последствия. Регистрируются: 1—дорсальный гиппокамп, 2—прозрачная перегородка, 3—ядра миндалевидного комплекса. Линии под ЭЭГ указывают на 5-секундные раздражения (2в, 100 ударов в сек) вентрального гиппокампа до (А) и после (Б, В, Г) введения адреналина, калибровка— 5 сек, 60 мкв

кампе. В прозрачной перегородке незначительные колебания потенциала появляются лишь с большим латентным периодом, когда пароксизмальные разряды усиливаются в миндалевидном комплексе и дорсальном гиппокампе (А). Внутривенное введение адреналина угнетает судорожную активность: длительность следового разряда, вызванного вскоре после введения адреналина раздражением вентрального гиппокампа (параметры раздражения те же, что и в опыте А), почти в два раза меньше, чем до введения адреналина, и завершается не достигая прежней интенсивности (Б). Последующие электроэнцефалограммы (В, Г) зарегистрированы соответственно через 20 и 30 минут после введения адреналина (В). В этих случаях продолжительность следовых разрядов, вызванных аналогичными раздражениями вентрального гиппокампа, постепенно увеличивается и приближается к доинъекционному уровню (В). Постепенное восстановление длительности следовых разрядов, по всей вероятности, обусловлено ослаблением адреналинового эффекта.

Электроэнцефалограммы, представленные на рис. 5, взяты из того же опыта и зарегистрированы после полной перерезки МРФ. Верхние ЭЭГ (А) записаны через 30 минут после перерезки мозгового ство-

ла, когда функциональное состояние вышерасположенных структур головного мозга в какой-то степени восстановлено. Видно, что раздражение вентрального гиппокампа (параметры те же, что на рис. 4) вызывает более продолжительный следовой разряд (А). Повторное раздражение вентрального гиппокампа через 40 мин вызывает еще более дли-

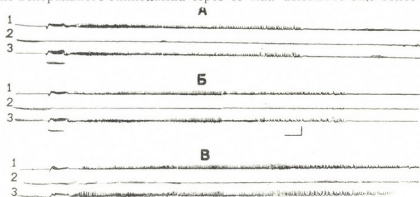


Рис. 5. Изменение разрядов последствия после перерезки МРФ и инъекции адреналина. Регистрируются: 1—дорсальный гиппокамп, 2—прозрачная перегородка, 3—ядра миндалевидного комплекса. Линии под ЭЭГ указывают на 5-секундные раздражения (2в, 100 ударов в сек) вентрального гиппокампа после перерезки МРФ (А, Б) и инъекции адреналина (В), калибровка—5 сек, 60 мкв

тельный следовой разряд (рис. 5, Б). Внутривенное введение малых доз адреналина после перерезки МРФ уже не подавляет возникновение следового разряда (В). Наоборот, в ряде случаев оно вызывает даже удлинение разрядов последствия, как это имело место в данном опыте.

ОБСУЖДЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ

Результаты проведенных экспериментов показывают, что введение малых доз адреналина непосредственно в МРФ подавляет возникновение следового разряда в гиппокампе. Этот эффект полностью согласуется с данными прежних работ [6] и интерпретируется как результат активирования адренэргических комплексов ретикулярной формации. Аналогичные результаты были получены при внутривенном введении малых доз этого вещества. Угнетающее влияние внутривенного введения адреналина на возникновение следовых разрядов также рассматривается, как результат активирования определенных комплексов МРФ. Предположение об активировании МРФ под влиянием внутривенно введенного адреналина подкрепляется тем, что после перерезки мозгового ствола выше среднего мозга исчезает ЭЭГ десинхронизирующий эффект внутривенно введенного адреналина [2].

Противоположный эффект получается после перерезки МРФ на уровне верхней границы. Полное выключение восходящего влияния МРФ облегчает возникновение судорожной активности. Следует отметить, что перерезка мозгового ствола, сама по себе, является значительной травмой, нанесенной на головной мозг и приводящей к понижению возбудимости нервных клеток и, тем самым, повышению порога эпилептигенного раздражения. Однако спустя несколько десятков минут после перерезки мозга, эффект травмы в некоторых случаях уменьшается, и функциональное состояние вышележащих структур восстанавливается, оставаясь, однако, несколько ниже дооперационного уровня. На этом фоне умеренное раздражение вентрального гиппокам-



па вызывает более интенсивный и длительный эпилептиформный ряд последствий, чем это наблюдалось до перерезки МРФ.

Усиление следового разряда после выключения восходящего влияния МРФ наблюдалось типично, хотя соотношение длительностей вызванных следовых разрядов до и после перерезки МРФ не всегда одинаковое и зависит, по всей вероятности, от интенсивности раздражения гиппокампа и функционального состояния мозга после перерезки. Усреднение данных девяти опытов дало следующие показатели: умеренное раздражение вентрального гиппокампа до перерезки МРФ вызывало следовой разряд длительностью $35,6 \pm 3,58$ сек, а после перерезки МРФ — $109,6 \pm 22,5$ сек. Увеличение длительности следового разряда после выключения восходящего влияния МРФ является статистически достоверным (по *t*-распределению Стьюдента, $0,05 > p > 0,01$, объем выборки $n=9$).

Сопоставление эффектов инъекции адреналина и верхней перерезки МРФ свидетельствует о тормозящем влиянии МРФ на судорожную активность: повышение степени активности МРФ затрудняет вызов следового разряда, а выключение тонического влияния МРФ облегчает его возникновение.

Повышение порога раздражения для вызова эпилептиформных следовых разрядов может быть обусловлено как непосредственным тормозящим влиянием МРФ на раздражаемые эпилептогенные структуры [11], так и путем активирования новой коры и усиления ее тонически тормозящего влияния на нижележащие структуры головного мозга [3].

После выключения восходящего влияния МРФ на вышележащие отделы головного мозга внутривенное введение малых доз адреналина не подавляет возникновение следового разряда. Увеличение же продолжительности следового разряда под влиянием внутривенно введенного адреналина, наблюдаемое иногда после перерезки МРФ, можно рассматривать как результат непосредственного действия этого вещества на вышерасположенные отделы головного мозга.

ЛИТЕРАТУРА

1. Веин А. М., Сумский Л. И., Фишман М. Н. Ж. невропат. и психиатр. им. Корсакова, 72, 537—543, 1972.
2. Дель П. В. кн.: Ретикулярная формация ствола мозга. ИЛ, М., 1962, 325—337.
3. Иоселиани Т. К., Нанобашвили З. И. ДАН СССР, 217, 1457—1460, 1974.
4. Иоселиани Т. К., Нанобашвили З. И., Хизанишвили Н. А. Нейрофизиология, 6, 577—584, 1974.
5. Крейдлер А., Кригель Е., Стериале М. В. сб.: Рефлексы головного мозга. «Наука», М., 1965, 316—326.
6. Нанобашвили З. И. Исследование нервных механизмов судорожной активности головного мозга, вызванной раздражением гиппокампа. Автореферат диссертации, Тбилиси, 1974.
7. Нанобашвили З. И., Иоселиани Т. К. Сообщения АН ГССР, 69, 429—432, 1973.
8. Нанобашвили З. И., Хизанишвили Н. А., Иоселиани Т. К. Нейрофизиология, 6, 7, 176—181, 1975.
9. Пенфильд В., Джаспер Г. Эпилепсия и функциональная анатомия головного мозга человека. ИЛ, М., 1958.
10. Andy O. I., Mukawa J. *Electroenceph. Clin. Neurophysiol.*, 11, 397, 1959.
11. Hernandez-Peon R., Guerrero-Figueroa R. *Acta neurol. latino-amer.* 11, 3, 224—233, 1965.
12. Jasper H. H., Ajmone-Marsan G. A *Stereotaxic Atlas of the Diencephalon of the Cat*. Nat. Res. Council Canada. Ottawa, 1954.

13. Kajtor F., Hullay I., Farago L., Haberland K. Arch. Neurol. Psychiatol., 80, 25—38, 1958.
14. Moruzzi G., Magoun H. W. Electroenceph. Clin. Neurophysiol., 1, 455—473, 1949.
15. Niedermeyer E. Arch. Neurol., 12, 625—630, 1965.
16. Rothballe A. B. Electroenceph. Clin. Neurophysiol., 8, 603—621, 1956.

ბამოწმებულ კვალის ბანშუხტვებზე მიწინაცვალური რბტიკულური ფორმაციის ბავლენის შესწავლა

თ. იოსელიანი, ა. ხომერიკი, თ. გლოველი

საქართველოს სსრ მეცნიერებათა აკადემიის ფიზიოლოგიის ინსტიტუტი, თბილისი

რეზიუმე

ზრდასრულ კატებზე მწვავე ექსპერიმენტის პირობებში ვიკვლევდით ადრენალინის ინექციის და შუა ტვინის როსტრალური გადაჭრის გავლენას ჰიპოკამპის, გამწვირვალე ძვლის და ნუშისებრი ბირთვების ელექტრული გალიზიანებით გამოწვეულ შემდეგმოქმედების განმუხტვებზე. ნახვენები იქნა, რომ მცირე დოზით ადრენალინის ინექცია (ჩანერგილი ქემიტროდის საშუალებით) მუხენდეალურ ბადებრივ ფორმაციაში (მბფ) დამაქნინებელ გავლენას ახდენს თავის ტვინის კრუნჩხვით აქტივობაზე: იზრდება ე. წ. შემდეგმოქმედების განმუხტვების გამოწვევის ზღურბლი. მსგავს შედეგს იწვევს ადრენალინის ინექცია ვენაში, თუმცა ამ შემთხვევაში შემდეგმოქმედების განმუხტვების დაქნება შედარებით სუსტადაა გამოხატული.

მბფ-ს როსტრალურ საზღვარზე გადაჭრა საწინააღმდეგო ეფექტს იძლეოდა: მცირდებოდა პაროქსიზმული განმუხტვების გამოწვევის ზღურბლი. მბფ-ს გადაჭრის შემდეგ ვენაში ადრენალინის შეყვანა კრუნჩხვით აქტივობაზე დამაქნინებლად აღარ მოქმედებდა. მიღებული შედეგების საფუძველზე შეიძლება დავასკვნათ, რომ მბფ შემაკავებელ გავლენას უნდა ახდენდეს თავის ტვინის კრუნჩხვით აქტივობაზე.

INFLUENCE OF MESENCEPHALIC RETICULAR FORMATION ON INDUCED AFTERDISCHARGES

T. K. IOSELIANI, M. S. KHOMERIKI, T. B. GLOVELI

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

Summary

Effects of adrenalin injection and rostral midbrain transection on induced afterdischarges were studied in acute adult cats. The afterdischarges were induced by electrical stimulation of hippocampus, septum and amygdaloid nuclei. Small doses of adrenalin, injected into MRF (by means of implanted chemitrode) were shown to cause suppression of induced seizure activity, i. e. the threshold of electrical stimulation to provoke afterdischarges was increased. Intravenous injection of adrenalin had the same effect on afterdischarges, though the suppression was less pronounced.

The rostral transection of MRF led to the opposite effect: the threshold of afterdischarges was decreased. Intravenous injection of adrenalin, after MRF had been transected, did not suppress the afterdischarges. The data obtained may be interpreted as evidence for MRF inhibitory influence on induced seizure activity of the brain.

УДК 612.821

ФИЗИОЛОГИЯ ЧЕЛОВЕКА И ЖИВОТНЫХ

ВЛИЯНИЕ ЭЛЕКТРОЛИТИЧЕСКОГО ПОВРЕЖДЕНИЯ ГОЛОВКИ ХВОСТАТОГО ЯДРА НА УСЛОВНОРЕФЛЕКТОРНУЮ ДЕЯТЕЛЬНОСТЬ И ЦИКЛ БОДРСТВОВАНИЕ—СОН

М. В. Кешелава

Институт физиологии АН ГССР, Тбилиси

Поступила в редакцию 7.1.1975

На кошках с хронически вживленными электродами изучалось влияние повреждения головок хвостатых ядер на условнорефлекторную деятельность и цикл бодрствование—сон. Билатеральное повреждение дорсомедиального участка головки хвостатого ядра нарушало условнорефлекторную деятельность в течение определенного времени, после чего рефлекс со звуковой дискриминацией восстанавливался.

Значительные изменения претерпевает и цикл бодрствование—сон после повреждения головки хвостатого ядра. Нарушается цикличность фаз, происходит редуцирование во времени медленного глубокого сна и некоторое увеличение дремотного состояния, угнетается тета-ритм гиппокампа при парадоксальной фазе сна, наблюдается перемещение синхронизации в ранг дельта-ритма.

Анализируя данные, можно предположить, что хвостатое ядро участвует в регуляции чередования фаз в цикле бодрствование—сон, в формировании медленноволнового глубокого сна и в переработке информации для долговременной памяти, что должно происходить в данной фазе сна.

Многочисленные данные литературы о функциональном значении хвостатого ядра довольно противоречивы. С одной стороны, существует мнение, что хвостатое ядро сугубо моторно-тормозная структура [1, 25], а с другой, предполагают, что оно может участвовать в формировании сложных инструментальных условных рефлексов [4, 9, 12, 13] и в регуляции процессов памяти [15, 16, 19, 20].

Участие хвостатого ядра в процессе сна также вопрос дискуссионный. Еще в 1846 году Пуркинье предположил, что причиной наступления сна является сдавливание базальных ганглиев накопившейся кровью [см. 3]. Некоторые авторы [22, 30] и до сих пор считают, что хвостатое ядро играет определенную роль в формировании медленноволновой фазы сна, особенно начальной ее стадии [17], для которой характерна веретенообразная активность. Однако, по мнению других авторов, пускательный механизм этой активности находится в таламических ядрах [10]. Но сон, как известно, процесс неоднородный [11, 23]. Парадоксальная фаза этого цикла характеризуется многими фазическими и тоническими признаками, из которых наиболее характерным является активация гиппокампального тета-ритма [11]. Нами уже было показано, что раздражение хвостатого ядра у бодрствующего животного может также активировать тета-ритм в гиппокампе [5], тут



же нужно отметить высокий коэффициент самораздражения [27] при локализации раздражающего электрода в хвостатом ядре, что указывает на участие данного образования в мотивационных эмоциональных реакциях. Исходя из этой точки зрения, целью нашей работы было исследование влияний двустороннего повреждения хвостатого ядра на условнорефлекторную деятельность и цикл бодрствование—сон.

МЕТОДИКА

Опыты ставились на кошках в специальной экспериментальной камере, состоящей из двух отделений: стартовым отделением являлась задняя ее часть, где кошка приучалась сидеть и ждать условного сигнала. В передней части камеры находились кормушки, к которым вырабатывались условные пищеводвигательные рефлексы. После пищевого подкрепления на команду «на место» кошка сама направлялась в стартовое отделение и ждала там очередного условного сигнала. В результате ежедневной работы кошка приучалась к инструментальным пищеводвигательным движениям. Для этого нужно было приблизительно 60—70 сочетаний пищевого подкрепления со звуковым сигналом. Звуковым сигналом был тон 500 гц и щелчки частотой 1/сек, и соответственно условные рефлексы вырабатывались со звуковой дискриминацией: животное получало пищу на тон из левой кормушки и на щелчки из правой.

После установления условного рефлекса проводилась операция живления константановых электродов (Д 150—200 мк) в различные области хвостатого ядра и другие подкорковые (в частности в гиппокамп) и корковые структуры мозга, а для регистрации окуллограммы такие же электроды вживлялись в глазодвигательные мышцы. Координаты брались по стереотаксическому атласу Джаспера и Аймонь-Марсана [24]. Операция проводилась под нембуталовым наркозом (35—40 мг/кг).

Живление электродов обычно не влияло на дифференциацию условных сигналов.

Производилась ежедневная 12-часовая регистрация цикла бодрствование—сон. Электрическая активность различных структур головного мозга записывалась на 13-канальном чернилопишущем электроэнцефалографе фирмы «San'eis». При помощи двухканального анализатора-интегратора той же фирмы производился частотно-амплитудный анализ электроэнцефалограммы. Величины отдельных ритмов (δ , θ , α , β_1 , β_2),



Рис. 1. Локализация повреждения хвостатого ядра в области А—17-20, диаметром 2,5—3 мм

интегрированных за 5-секундную эпоху, обрабатывались статистически, и достоверность наблюдаемых изменений определялась Т-критерием Стьюдента [см. 7].

После регистрации фона цикла бодрствование—сон, под эфирным наркозом, производилось билатеральное электролитическое повреждение хвостатого ядра и опять велось наблюдение как за условнорефлекторной деятельностью, так и циклом бодрствование—сон для определения влияния повреждения.

По окончании опытов животное забивалось, мозг фиксировался 10%-ным формалином и на серийных фронтальных срезах проверялись локализация глубинных электродов и степень повреждения хвостатых ядер (рис. 1).

Наблюдения над изменением условнорефлекторной деятельности после повреждения дорсомедиального участка головки хвостатого ядра можно разделить на три периода.

Первый период охватывал примерно первые три дня после повреждения хвостатых ядер. Для животных характерны манежнообразные движения, возбуждение и даже агрессия. Однако условнорефлекторная деятельность в этом периоде была сохранена. Поворачивая голову к нужной кормушке, животные правильно реагировали на условные сигналы.

Во втором периоде наблюдалось изменение условнорефлекторной деятельности в смысле нарушения звуковой дискриминации. Он длился примерно следующие 4—7 дней. Животные долго кружили по камере пока находили нужную кормушку. Но при повторении сочетаний пищи и сигнала в течение одного опытного дня все же удавалось восстановить звуковую дискриминацию. Однако на следующий день в начале опыта животные опять начинали допускать ошибки, хотя для достижения дискриминации требовалось меньшее количество сочетаний.

В третьем периоде звуковая дискриминация восстанавливалась. Животные правильно реагировали на звуковые раздражения и безошибочно выбирали соответствующую кормушку.

Степень звуковой дискриминации иллюстрируется на рис. 2, А: до повреждения, после повреждения головки хвостатого ядра, когда наиболее резко выражается нарушение условного рефлекса, и после вос-

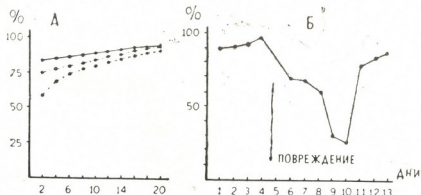


Рис. 2. А—динамика условного рефлекса за один опытный день. По оси абсцисс отложено количество сочетаний звукового раздражения с пищевым подкреплением, по оси ординат—выполнение задачи в процентах. Сплошной линией обозначен фон до повреждения, пунктиром—наиболее выраженное изменение условнорефлекторной деятельности, линией с точкой—день восстановления условнорефлекторной деятельности. Б—общая динамика условнорефлекторной деятельности до и после повреждения хвостатого ядра. По оси абсцисс отложены опытные дни, по оси ординат—выполнение задачи со звуковой дискриминацией в процентах

становления нормальной условнорефлекторной деятельности, в смысле выбора кормушки на звуковые сигналы. Общая суммарная картина динамики условнорефлекторной деятельности до и после повреждения головок хвостатых ядер представлена на рис. 2, Б.

Таким образом можно сделать заключение, что хвостатое ядро принимает участие в формировании условного рефлекса, а именно в процессе сохранения в памяти приобретенного навыка. Его повреждение изменяет и даже нарушает предварительно выработанные условные рефлексы и особенно дискриминацию звуковых условных сигналов. Это выражается в том, что в течение нескольких дней восстановление дискриминации достигается к концу опытного дня, но на второй же день она оказывается нарушенной.

Электrolитическое повреждение дорсомедиального участка головки хвостатого ядра вызывает довольно сильные изменения в цикле бодрствования—сон, и в этом случае замечается определенная закономерность.

В первом периоде, к которому относились первые три дня после повреждения хвостатых ядер, возбужденные животные плохо спали, часто просыпались. На электроэнцефалограмме, главным образом в гиппокампе, появлялись эпилептиформные разряды со всеми характерными компонентами (рис. 3).

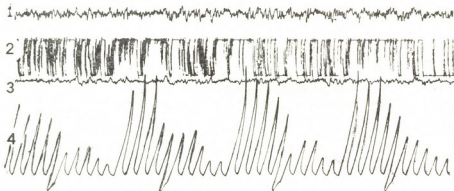


Рис. 3. Эпилептиформная активность на второй день после повреждения хвостатого ядра. 1—сенсомоторная область новой коры, 2—дорсальный гиппокамп, 3—неповрежденный участок хвостатого ядра, 4—интегрированные величины ритмов (дельта, тета, альфа, бета₁, бета₂), первые пять отклонений для сенсомоторной коры, вторые пять для гиппокампа за пятисекундную эпоху.

Во втором периоде, который длился примерно с четвертого дня после повреждения хвостатого ядра до конца исследования, замечалось редуцирование во времени медленноволновой фазы сна и увеличение количества парадоксальных фаз. На рис. 4 показана динамика соотношения фаз в цикле бодрствование—сон до (А) и после (Б) повреждения хвостатых ядер. Как видно из рисунка, очередность фаз после повреждения хвостатого ядра не меняется, однако резко меняется частота фаз во всем цикле.

До повреждения хвостатого ядра имелось такое процентное соотношение фаз в цикле: бодрствование—приблизительно 40%, дремотное состояние—16%, глубокий медленный сон—34%, парадоксальный сон—9%. После повреждения же бодрствование длится примерно 36% всего цикла, дремотное состояние—34%, глубокий медленный сон—21% и парадоксальный—8% (рис. 4, В). Таким образом наблюдалось такое взаимоотношение: незначительное уменьшение продолжительности бодрствования и значительное редуцирование глубокого медленного сна, в то время как увеличивалась длительность дремотного состояния. Процентное взаимоотношение парадоксальных фаз до и

после повреждения головок хвостатых ядер не менялось, несмотря на то, что частота этих фаз увеличивалась, однако продолжительность каждой фазы после повреждения меньше фона.

На фоне редуцирования во времени медленноволновой фазы нами наблюдалось также угнетение тета-ритма в парадоксальной фазе сна. На рис. 5 показана электроэнцефалограмма кошки до (А) и после (Б) повреждения хвостатого ядра. В парадоксальной фазе до повреждения хвостатых ядер наблюдалась активация тета-ритма, которая должна сопровождать эмоциональное напряжение животного, имеющее место в этой фазе сна. На окуллограмме заметны быстрые движения глазных яблок, что также характерно для данной фазы. После повреждения хвостатого ядра, примерно на 7—9 день, происходит угнетение тета-ритма в этой фазе сна. Синхронизация электрической активности гиппокампа перемещается в ранг дельта-ритма.

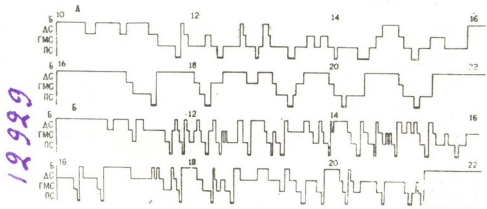
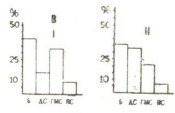


Рис. 4. Смещение фаз в цикле бодрствование—сон до (А) и после (Б) повреждения хвостатого ядра. В—процентное взаимоотношение фаз в цикле бодрствование—сон до (I) и после (II) повреждения хвостатого ядра

Таким образом повреждение головки хвостатого ядра кошек вызывает значительные изменения в цикле бодрствование—сон: во-первых, редуцирование во времени глубокого медленного сна; во-вторых, увеличение числа парадоксальных фаз сна и, в-третьих, угнетение активации тета-ритма в гиппокампе в парадоксальной фазе сна, что указывает на упадок эмоционального напряжения животного в этой фазе.

ОБСУЖДЕНИЕ

Работы, указывающие на участие хвостатого ядра в отсроченных реакциях [15, 16, 19, 20], подтверждают мнение об его определенной роли в регуляции памяти.

По нашим данным, повреждение хвостатого ядра заметно влияло на условнорефлекторную деятельность кошек. Особое внимание привлекла этапность опытов. В первом периоде, при сильном возбуждении

3. Биологический институт
 СССР Академии Наук
 30 000000

65681

животных, условнорефлекторная деятельность не нарушается, по вероятности, неповрежденные участки хвостатого ядра посылают свою сильную импульсацию в различные области головного мозга, в частности в те, которые связаны с условнорефлекторной деятельностью. Особенно легко этому импульсивному натиску поддается лимбическая система, а в частности гиппокамп, что проявляется в виде эпилептиформной активности на следующий день после повреждения хвостатых ядер. Это можно было предположить, так как, по данным Костина и сотр. [18], раздражение хвостатого ядра продуцирует судорожную активность в первую очередь в гиппокампе.

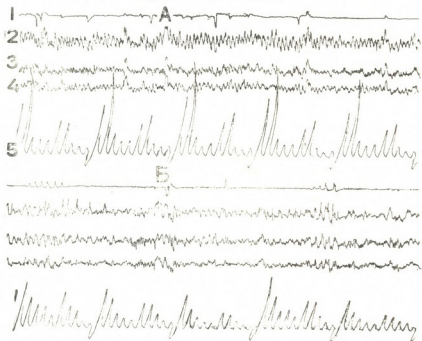


Рис. 5. Угнетение гиппокампального тета-ритма после повреждения хвостатого ядра в парадоксальной фазе сна. А—до повреждения, Б—после повреждения хвостатого ядра. 1—окулограмма, 2—гиппокамп, 3—сенсомоторная область новой коры, 4—каудальная часть хвостатого ядра, 5—интегрированные величины ритмов (дельта, тета, альфа, бета₁, бета₂) для гиппокампа и сенсомоторной области за пятисекундную эпоху

В следующем периоде отмечается нарушение условнорефлекторной деятельности. Оно указывает на то, что при повреждении хвостатых ядер страдает долгосрочная память, т. к. обученный навык сохранен в течение одного опытного дня, но на следующий день этот навык исчезает, и животное приходится обучать заново. Теряется возможность хранения следов. Краткосрочная память в этом случае не страдает. Эти данные согласуются с довольно распространенным мнением о разности механизмов краткосрочной и долгосрочной памяти [см. 1,6].

В третьем периоде, во время восстановления условнорефлекторной деятельности, по всей вероятности, проявляются компенсаторные свойства мозга [6], в частности прореальной извилины, которая связана именно с головкой хвостатого ядра [16, 20], участвует в формировании отсроченных реакций и в конечном итоге долгосрочной памяти вместе с данной структурой.

Как уже говорилось, довольно сильные изменения претерпевает цикл бодрствование—сон после повреждения хвостатого ядра.

Повреждение хвостатых ядер вызывает редуцирование во времени медленноволновой фазы сна и увеличение частоты парадоксальных фаз. В литературе существует довольно-таки распространенное мнение о том, что медленноволновый и парадоксальный сон состоят в причинно-следственной связи [23, 28]. Для проявления парадоксального сна необходимо существование фазы глубокого медленного сна определенной длительности. Наши данные несколько не согласуются с этим утверждением. Медленноволновая фаза сна значительно редуцируется во времени, что, однако, не мешает появлению парадоксальных фаз сна.

Укорочение глубокого медленного сна после повреждения хвостатых ядер, по-видимому, должно компенсироваться удлинением дремотного состояния, хотя Урсин [29] считает такую компенсацию не реальной.

Повреждение головок хвостатых ядер, по-видимому, расстраивает сложный комплекс тех телэнцефалических структур, которые участвуют в формировании медленноволновой фазы сна. Но так как не они одни являются участниками формирования этой фазы [23], то медленноволновый сон все же имеется в наличии и после повреждения хвостатых ядер.

С другой стороны, если принять во внимание данные В. О. Черкеса и др. [14], повреждение хвостатых ядер должно было влиять на дремотное состояние, но, по нашим данным, оно оказалось более стабильным по сравнению с медленноволновой фазой сна и даже происходит его некоторое увеличение во времени.

Как уже отмечалось, во время редуцирования медленноволновой фазы сна наблюдаются изменения и в парадоксальной фазе, что выражается в угнетении тета-ритма в гиппокампе при наличии остальных двигательных признаков этой фазы.

Так как тета-ритм гиппокампа является коррелятом эмоционального напряжения животных как в бодрствовании, так и в парадоксальной фазе [11], можно предположить, что после повреждения хвостатого ядра происходит спад эмоционального напряжения.

Против спада эмоционального напряжения говорит также и увеличение частоты парадоксальных фаз, которое наблюдается после повреждения хвостатых ядер. По всей вероятности, при повреждении хвостатых ядер снимается тормозное влияние этой структуры на мостовые отделы, которые, по последним данным, могли бы формировать парадоксальные фазы [23].

Таким образом, увеличение числа парадоксальных фаз и редуцирование во времени медленноволновой фазы сна указывает на два значительных факта: во-первых, что хвостатое ядро участвует в формировании медленноволновой фазы сна и, во-вторых, регулирует чередование фаз в цикле бодрствование—сон.

Сравнивая первую серию опытов с условнорефлекторной деятельностью и вторую с влиянием повреждения головки хвостатого ядра на цикл бодрствование—сон, можно определить взаимосвязь между редуцированием во времени медленноволновой фазы сна с дефицитом долготрочной памяти. Некоторые авторы [4, 13, 26] считают, что хвостатое ядро, относясь к таламо-кортикальной системе, принимает участие в переработке информации в условнорефлекторной деятельности и отсроченных реакциях. К тому же, если сопоставить наши данные с результатом Гесса с сотр. [22] и Вейса [30] об участии хвостатого ядра в формировании медленноволновой фазы сна или телэнцефалической фазы, то можно сделать общий вывод, что хвостатое ядро, относясь к таламо-каудо-кортикальной системе, регулирует процессы переработки информации, которые должны происходить в медленноволновой фазе сна [3, 8].

1. Бериташвили И. С. Память позвоночных животных. «Наука», М., 1974.
2. Бутхузи С. М. Электрофизиологическое исследование функции хвостатого ядра. «Медицира», Тбилиси, 1971, 210—218.
3. Вейн А. М. Нарушение сна и бодрствования. «Медицина», М., 1974
4. Данилова Л. К. Мат. симпозиума «Базальные ганглии и поведение». Л., 15—17, 1972.
5. Кешелава-Гогичадзе М. В., Ониани Т. Н. Сообщения АН ГССР, 68, 201—204, 1972.
6. Конорки Ю. Интегративная деятельность мозга. «Мир», М., 1970.
7. Лакин Г. Ф. Биометрия. «Высшая школа», М., 1973.
8. Латаш Л. П., Манов Л. П. Вопросы психологии. I, 87—93, 1974.
9. Мосидзе В. М. Сообщения АН ГССР, 27, 480—485, 1961.
10. Нарикашвили С. П., Каджая Д. В., Тимченко А. С. Ж. высш. нерв. деят., 22, 843—850, 1972.
11. Ониани Т. Н., Ксридзе М. Г., Кавкасидзе М. Г. В сб.: Вопросы нейрофизиологии эмоций и цикла бодрствование—сон. «Медицира», Тбилиси, 1974, 85—119.
12. Орджоникидзе Ц. А. Тр. инст. физиологии АН ГССР, 13, 113—118, 1963.
13. Суворов Н. Ф. В сб.: Стрипаллидарная система. «Наука», Л., 1973.
14. Черкес В. О., Мирончик К. В., Груздев Г. М. Физ. ж. УССР, 16, 436—442, 1970.
15. Ablanalp J. M., Mirsky A. F. J. comp. physiol. Psychol., 85, 123—131, 1973.
16. Battig K., Rosvold H. E., Mishkin M. J. comp. physiol. Psychol., 55, 458—463, 1962.
17. Buchwald N. A., Horvath F. E., Soltysik S., Romero-Sierra C. Electroenceph. clin. Neurophysiol., 18, 529—535, 1965.
18. Costin A., Gutman J., Bergmann F. Electroenceph. clin. Neurophysiol., 15, 997—1005, 1963.
19. Deadwyler S. A., Montgomery D., Wyers E. J. Physiol. Behav., 8, 631—635, 1972.
20. Divac I., Rosvold H. E., Szwarcbart M. K. J. comp. physiol. Psychol., 63, 184—190, 1967.
21. Fonberg E., Delgado J. M. R. J. Neurophysiol., 24, 651—657, 1961.
22. Hess R., Koella W. P., Akert K. Electroenceph. clin. Neurophysiol., 5, 75—90, 1963.
23. Jouvet M. Science J., 67, 3—7, 1967.
24. Jasper H. H., Ajmone-Marsan C. A Stereotaxic Atlas of the Diencephalon of the Cat. Ottawa, Nat. Res. Council Canada, 1954.
25. Laursen A. M. Acta Physiol. Scand., 59, Suppl. 211, 1963.
26. Liles S. L., Davis G. D. J. Neurophysiol., 32, 564—573, 1969.
27. Routenberg A. Physiol. Behav., 3, 533—535, 1968.
28. Svorad D., Karmanova I. G. Nature, 212, 713—720, 1965.
29. Ursin H. Brain Res., 20, 91—98, 1970.
30. Weiss T. R. Experientia, 23, 130—132, 1967.

კუდიანი პირთვის თავის ელექტროლიტური დავიანების გავლენა
კატების პირობით-რეფლექსურ მოქმედებაზე და ძილ-ღვიძილის
ციკლზე

ნ. კეხელიძე

საქართველოს სსრ მეცნიერებათა აკადემიის ფიზიოლოგიის ინსტიტუტი, თბილისი
რეზიუმე

ქონიკულად ჩანერგილ ელექტროდებთან კატებზე ვაკვირდებოდი
ცხოველების პირობით-რეფლექსურ მოქმედებას და ძილ-ღვიძილის ციკლს.



კუდიანი ბირთვის თავის ბილატერალური ელექტროლიტური დაზიანება არღვევს გარკვეული დროის განმავლობაში პირობით-რეფლექსურ მოქმედებას და ძილ-ღვიძილის ციკლის თანმიმდევრულობას.

მიღებული მონაცემები საშუალებას გვაძლევენ დავასკვნათ, რომ კუდიანი ბირთვი მონაწილეობას იღებს პირობით-რეფლექსური მოქმედებისა და ძილის ნელტალღოვანი ფაზის ფორმირებაში და ასევე არეგულირებს ფაზების ციკლიურობას ძილ-ღვიძილის ციკლში.

CAUDATE NUCLEUS LESION EFFECTS ON THE CONDITIONED REFLEX ACTIVITY AND WAKEFULNESS-SLEEP CYCLE IN CATS

M. V. KESHELAVA

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

S u m m a r y

Effect of caudate nucleus lesion on the conditioned reflex activity and wakefulness-sleep cycle was studied in cats with chronically implanted electrodes.

Bilateral lesion of the head of caudate nucleus disrupts the conditioned reflex activity and the wakefulness-sleep cycle.

It is concluded that the caudate nucleus is responsible for the origin of conditioned activity and deep slow wave sleep. It also regulates the alternation of the different phases of sleep.

УДК 612.014.42/45

ФИЗИОЛОГИЯ ЧЕЛОВЕКА И ЖИВОТНЫХ

О СПЕЦИФИЧЕСКИХ ОСОБЕННОСТЯХ ДЕЙСТВИЯ НЕКОТОРЫХ ВЫСОКОЧАСТОТНЫХ ФИЗИЧЕСКИХ ФАКТОРОВ НА ТКАНИ

З. В. Кобахидзе, А. П. Закарая

НИИ курортологии и физиотерапии Минздрава ГССР им. И. Г. Кониашвили, Тбилиси

Поступила в редакцию 22.1975

Исследованы импеданс, температура, напряжение кислорода и скорость локального кровотока живых тканей при действии ультразвуковых (УЗ), ультравысокочастотных (УВЧ) и сверхвысокочастотных (СВЧ) электромагнитных полей, а также инфракрасного (ИК) излучения, применяемых в физиотерапии. Показано, что общим для всех изучаемых факторов, независимо от их интенсивности, является повышение температуры и уменьшение импеданса. Корреляция, наблюдаемая между изменениями активной и реактивной составляющей импеданса и температурой при действии низких интенсивностей УЗ, УВЧ, СВЧ и ИК излучения, нарушается при высоких интенсивностях, за исключением ИК излучения. Различия в действиях этих факторов наблюдаются в отношении изменений напряжения кислорода и скорости локального кровотока. При действии УЗ и СВЧ напряжение кислорода в тканях повышается, тогда как при действии ИК излучения, независимо от его интенсивности, понижается. Скорость локального кровотока при действии СВЧ, ИК излучения и низких интенсивностей УЗ повышается, однако при высоких интенсивностях УЗ отмечается ее понижение. Скорость восстановления изменений изучаемых параметров находится в прямой зависимости от интенсивности применяемых факторов. Высказывается возможность дифференцированного использования УЗ и СВЧ при нарушениях тканевой трофики и местного кровообращения.

В последнее время заметно увеличилось количество работ, касающихся изучения конкретных механизмов действия преформированных физических факторов на организм. Однако имеющиеся в настоящее время данные по этому вопросу далеко не исчерпывающие, а число проблем, требующих разрешения, все еще велико.

Анализ данных литературы свидетельствует, что изучение только общих реакций организма (нейро-рефлекторных и нейро-гуморальных) не дает возможности вскрыть специфические особенности действия отдельных факторов. Следовательно, одним из необходимых условий выяснения специфических сторон действия физических факторов, по-видимому, является изучение тех биохимических и биофизических процессов, которые инициируются в поле действия этих агентов и лежат в основе физиологических реакций организма.

Механизм действия физических факторов характеризуется значительной сложностью. Это обусловлено тем, что их влияние складывается из многих действующих элементов, и в каждом конкретном случае удельный вес каждого из них зависит от формы и величины энергии, получаемой биологическим объектом, свойств и состояния самого объекта и других условий.



В литературе имеются попытки объединения некоторых высоко-частотных физических факторов в одну группу по какому-либо общему эффекту, свойственному им всем. Так, некоторые исследователи [15, 16, 17], основываясь на термическом эффекте, рассматривают ультразвук, высокочастотные и сверхвысокочастотные электромагнитные поля как коротковолновую диатермию. Конечно, имеется полное основание допустить важное значение термического эффекта в механизме действия высокочастотных факторов, однако вопрос об удельном весе теплового и специфических эффектов в механизме их действия до сих пор окончательно не выяснен, и, следовательно, исследования в этом направлении представляют большой интерес.

Настоящее исследование посвящено изучению вопроса сравнительного действия ультразвука (УЗ), ультравысокочастотного (УВЧ) электромагнитного поля, микроволн сантиметрового диапазона (МВ) и инфракрасного (ИК) излучения на живые системы. Основанием для выбора этих факторов послужило то обстоятельство, что, наряду с такими общими свойствами, как принадлежность к радиационной энергии, высокочастотная характеристика и способность термогенеза, они значительно отличаются друг от друга формой энергии, частотой и даже механизмом термогенеза.

Известно, что многие физические факторы, приложенные к организму животного, в первую очередь оказывают влияние на кожу и мышечную ткань. Стало быть, эти входные ворота и подвергаются в основном первичному воздействию.

Для исследования физико-химических процессов и функциональных сдвигов непосредственно в поле воздействия физических факторов и их сравнительной оценки были выбраны такие параметры, как полное электрическое сопротивление (импеданс), температура, напряжение кислорода и скорость локального кровотока в тканях.

Изучение пассивных электрических показателей нами проводилось с помощью универсального моста переменного тока (R-568), который дает возможность регистрировать отдельно активную и реактивную составляющие импеданса. Сопротивление кожи и мышц измерялось серебряными электродами площадью 0,6 см², на частоте 10000 гц.

Для измерения температуры тканей применяли медь-константановые термопары $d_m=0,2$ мм, $d_k=0,3$ мм, имеющие малую теплоемкость и соответственно малую инерционность.

Определение напряжения кислорода в тканях проводилось полярографическим методом с применением платиновых и железных электродов.

Ввиду того, что в основе изменения концентрации свободного кислорода могут лежать как сдвиги в процессах утилизации кислорода, так и степень кровоснабжения данного участка, то представлялось целесообразным изучение и скорости локального кровотока, для чего использовался полярографический метод (метод водородного клиренса).

В качестве источника УЗ колебаний использовали терапевтический аппарат УТП-1. Источниками электромагнитных колебаний служили УВЧ-4 и Луч-2. Для ИК излучения был сконструирован специальный излучатель ($\lambda=900-1000$ мкм) с радиационной поверхностью $S=1$ см².

Эксперименты проводились на лягушках, белых крысах и кроликах. Результаты экспериментов свидетельствуют, что как кожа, так и мышечная ткань проявляют высокую чувствительность к физическим факторам. Электрические параметры изменяются сразу же после наложения внешнего поля и при весьма малых интенсивностях. Изменениям подвергаются как активная, так и реактивная составляющие импеданса.

При низких и средних значениях интенсивности УЗ колебаний (до 0,8—1,0 Вт/см²) изменения омической и емкостной составляющих импеданса коррелируют с температурой. Однако при высоких интенсивностях УЗ (выше 1,0 Вт/см²) корреляция между сопротивлением и температурой тканей нарушается в основном за счет емкостной составляющей импеданса. Вместе с тем, изменения омической составляющей и температуры симпатны и при высоких интенсивностях. Характер функций $\frac{\Delta R}{R} = f(J)$ во всем диапазоне интенсивностей (0,2—1,8 Вт/см²) в основном определяется изменением температуры вследствие поглощения акустической энергии, что подтверждается установленной зависимостью между сопротивлением и количеством тепловой энергии, подведенной к тканям посредством ИК излучения (рис. 1).

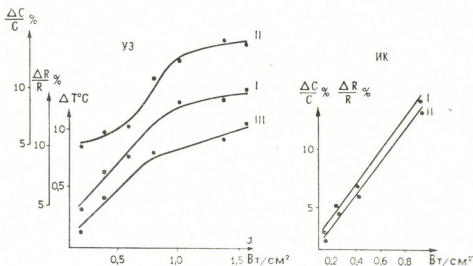


Рис. 1. Характер изменений омической и емкостной составляющих импеданса и температуры под влиянием ультразвука (УЗ) и инфракрасных (ИК) колебаний.

$$I - \frac{\Delta R}{R}, \quad II - \frac{\Delta C}{C}, \quad III - \Delta T$$

При высоких интенсивностях УЗ колебаний живые системы, определяющие величину емкостного сопротивления, претерпевают существенные изменения, по-видимому, вследствие преобладания механического эффекта.

Заслуживает внимания тот факт, что нарушение линейности в изменениях электрических параметров тканей наступает при интенсивностях выше 0,8—1,0 Вт/см². Критичность УЗ колебаний в данной области нами была установлена раньше, при изучении влияния и механизмов их действия на различные функции организма и биомолекул [1, 2, 6, 7 и др.].

Электрические параметры тканей проявляют высокую чувствительность и к электромагнитным полям высокой частоты. Однако в отличие от УЗ колебаний УВЧ поле вызывает фазные изменения, что довольно ярко проявляется в отношении омической составляющей. В процессе воздействия омическая составляющая понижается. После снятия внешнего воздействия она начинает возвращаться к исходному уровню, од-

нако не достигает его и спустя 8—10 минут вновь понижается. Емкостная составляющая импеданса такой фазности не проявляет (рис. 2). В процессе воздействия УВЧ поля измерение температуры с помощью термодпар не удается в силу нагревания металла и соответственно искажения показателей температуры.

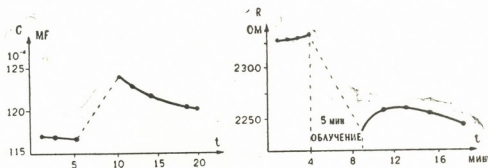


Рис. 2. Изменения омической (R) и емкостной (C) составляющих импеданса под влиянием УВЧ колебаний (P=40 Вт)

Под влиянием СВЧ характер изменений омического сопротивления во всем интервале интенсивностей (0,8—10,5 Вт/см²) прямолинеен и коррелирует с изменением температуры. Действие сравнительно высоких интенсивностей СВЧ, как и в случае УЗ, проявляется в сложной зависимости $\frac{\Delta C}{C}$ от интенсивности, которая не коррелирует с изменением температуры (рис. 3). Степени изменения емкостного сопротивления мышцы и кожи при прочих равных условиях близки, тогда как прирост омического сопротивления и температуры кожи несколько занижен. Эти данные дают основание предположить, что изменение омического сопротивления определяется повышением температуры облучаемого участка. Что же касается изменений емкостного сопротивления, то, по-видимому, оно обусловлено перераспределением зарядов на разделе фаз вследствие изменений конфигурации макромолекул и воды мембранных систем и повышения подвижности электролитических компонентов [10, 11 и др.].

При изучении влияния ИК излучения было показано, что изменения электрофизических параметров (R, C, t°) коррелируют между собой. Величина прироста $\frac{\Delta R}{R}$ и $\frac{\Delta C}{C}$ одинаково зависит от интенсивности

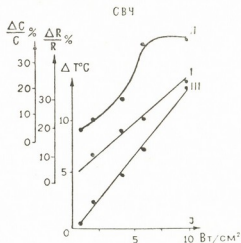


Рис. 3. Зависимость изменений омической и емкостной составляющих импеданса и температуры от интенсивности СВЧ колебаний.

I — $\frac{\Delta R}{R}$, II — $\frac{\Delta C}{C}$, III — ΔT

Величина прироста $\frac{\Delta R}{R}$ и $\frac{\Delta C}{C}$ одинаково зависит от интенсивности



ИК излучения. Характер отношений этих параметров находится в линейной зависимости от температуры облучаемой ткани. Однако эта зависимость сохраняется до определенного значения интенсивностей.

По-видимому, такие различия в характере действия этих факторов на электрофизические параметры тканей обусловлены формой и величиной поглощенной объектом энергии, которая, в свою очередь, определяется параметрами внешнего поля и структурными особенностями объекта. Таким образом, форма и величина подводимой к биологическим системам энергии в основном и определяют характер инициируемых местных реакций. Подтверждением могут служить данные по изучению напряжения кислорода и скорости локального кровотока в тканях при действии на них УЗ, МВ, ИК облучения.

ИК излучение ведет к понижению свободного кислорода в мышцах, увеличивая одновременно скорость локального кровотока. Анализ полученных результатов показывает, что степень утилизации кислорода тканями повышается в большей мере, чем скорость кровотока, что должно служить основанием для допущения возможности повышения обменных процессов в исследуемых тканях (табл. 1).

Таблица 1
Изменение напряжения кислорода (pO_2) и скорости локального кровотока $\left(\frac{\Delta K}{K}\right)$ в зависимости от интенсивности инфракрасных излучений

Интенсивность, Вт/см ²	0,14	0,19	0,45
ΔpO_2 в отн. ед. %	$-2,6 \pm 0,7$	$-6,5 \pm 2,0$	$-9,0 \pm 2,1$
$\frac{\Delta K}{K}$ %	$15 \pm 2,4$	$25 \pm 2,2$	$45 \pm 3,0$

МВ в значительной степени повышают уровень свободного кислорода в тканях (в основном в мышцах). Вместе с тем повышается и скорость локального кровотока. Однако при высоких интенсивностях МВ прирост напряжения кислорода преобладает над увеличением скорости кровотока (табл. 2).

Таблица 2
Изменение напряжения кислорода (pO_2) и скорости локального кровотока $\left(\frac{\Delta K}{K}\right)$ в зависимости от интенсивности СВЧ колебаний

Интенсивность, Вт/см ²	0,8	1,8	4,5	6,5
ΔpO_2 в отн. ед. %	$7,6 \pm 1,2$	$22 \pm 2,5$	$52 \pm 5,1$	$113 \pm 4,5$
$\frac{\Delta K}{K}$ %	$18 \pm 2,6$	$27 \pm 3,2$	$46 \pm 4,0$	$97 \pm 5,2$

Если при низких интенсивностях еще можно говорить об увеличении потребления кислорода тканями (1—4,5 Вт/см²), то начиная с 4,5 Вт/см² повышение напряжения кислорода преобладает над приростом скорости кровотока, что, по-видимому, объясняется угнетением ак-



тивности метаболических процессов. Подтверждением служит факт понижения активности некоторых ферментов, в том числе цитохромовых ферментов [9, 12]. Следовательно, угнетение окислительных процессов, с одной стороны, и увеличение скорости локального кровотока, с другой, — ведет к значительному повышению напряжения кислорода в облучаемой ткани.

УЗ колебания, так же как и МВ, повышают концентрацию свободного кислорода в облучаемых участках, однако при низких интенсивностях УЗ (до 0,4 Вт/см²) концентрация свободного кислорода нарастает очень медленно и с повышением интенсивности отмечается его резкое увеличение (табл. 3).

Таблица 3

Изменение напряжения кислорода (pO_2) и скорости локального кровотока

($\frac{\Delta K}{K}$) в зависимости от интенсивности ультразвуковых колебаний

Интенсивность, Вт/см ²	0,2	0,4	0,6	0,8	1,0
ΔpO_2 в отн. ед. %	2,0±0,6	3,5±1,0	7,3±2,4	11,5±3,2	12,6±2,5
$\frac{\Delta K}{K}$ %	8,8±1,8	5,0±1,5	-3,4±1,2	-9,0±2,0	-11,4±2,2

На основании этих данных можно допустить возможность угнетения метаболических процессов, однако результаты исследования скорости локального кровотока показали, что именно при низких значениях интенсивности УЗ колебаний в озвучиваемом участке повышается кровоток, причем степень усиления его значительно превышает степень повышения напряжения кислорода. Следовательно, повышение концентрации кислорода в основном обусловлено увеличением притока кислорода, а не угнетением его утилизации тканями. О стимулировании метаболических процессов и, в частности, окислительного фосфорилирования свидетельствуют наши ранние исследования, в которых было показано повышение содержания АТФ в мышечной ткани при воздействии УЗ колебаниями низких интенсивностей. Увеличение интенсивности приводит к снижению уровня АТФ и АДФ [5]. То же самое в последующем было подтверждено и другими исследователями [13]. Повышение напряжения кислорода и снижение уровня тканевого дыхания при воздействии УЗ колебаний средних интенсивностей наблюдали и другие исследователи [4, 14 и др.].

Наряду с вышеотмеченным на уровень окислительно-восстановительных процессов определенное влияние могут оказать некоторые биологически активные соединения, синтезируемые в поле действия УЗ колебаний. Ранее нами были получены данные, которые свидетельствуют о том, что под влиянием УЗ в биологических растворах, в том числе и в крови, синтезируются ионы NO₂ и NO₃. Эти соединения, как известно, могут ингибировать активность различных ферментных систем [3, 8].

Таким образом, приведенные нами данные сравнительного изучения некоторых высокочастотных физических факторов с определенной очевидностью свидетельствуют о том, что наряду с некоторыми сходными эффектами они проявляют и различное действие.

При низких значениях интенсивностей УЗ, УВЧ, МВ, а также ИК излучения изменения пассивных электрических показателей тканей кор-



релируют с температурой. Характерно, что нарушение корреляции происходит за счет емкостной составляющей импеданса. Возможно, что специфичность этих факторов определяется именно влиянием на системы, ответственные за емкостное сопротивление тканей, т. е. мембранные системы.

Изменения импеданса тканей во время УЗ и МВ воздействия носят сходный характер. В отличие от других факторов УВЧ колебания вызывают фазное последствие. Изменения омической составляющей при УЗ, МВ и ИК облучениях определяются главным образом повышением температуры облучаемого участка.

Величина изменений активной и реактивной составляющих импеданса примерно одинакова как для УЗ, так и для МВ в исследуемом диапазоне интенсивностей.

Изменения омического сопротивления и температуры кожи при УЗ воздействии больше, чем в мышечной ткани, тогда как при МВ воздействии наблюдается обратная картина.

Максимальный эффект для всех факторов наступает в течение первых 5—10 минут.

Изменения пассивных электрических показателей тканей свидетельствуют об изменениях физико-химических процессов на молекулярном и субмолекулярном уровнях. По величине прироста омического сопротивления можно судить о степени изменения подвижности ионов и концентрации электролитов внутри- и межклеточном пространстве. Изменения же емкостного сопротивления характеризуют лабильность электрических структур мембранных систем. Таким образом, пассивные электрические параметры являются одним из показателей функционального состояния живых тканей.

Некоторые различия отмечаются в действии физических факторов на окислительно-восстановительные процессы. В частности, УЗ и МВ при низких интенсивностях несколько повышают, а при высоких — понижают степень окислительных процессов, тогда как ИК облучение во всех случаях обуславливает их повышение. Следует отметить различие и в характере действия УЗ и МВ при низких интенсивностях, проявляющееся в более выраженном усилении окислительных процессов при УЗ воздействии.

В отношении скорости локального кровотока МВ и ИК облучение проявляет одинаковое действие. Однако в отличие от МВ, УЗ оказывает фазное действие, зависящее от применяемой интенсивности, что проявляется в увеличении скорости кровотока при низких интенсивностях и понижении — при высоких.

Таким образом, наблюдаемые нами закономерности изменения ряда физиологических показателей жизнедеятельности тканей при действии УЗ, УВЧ, МВ и ИК облучения в значительной степени облегчают выяснение общих и отличительных сторон в механизме действия этих факторов.

Эти данные дают определенное основание для более дифференцированного применения вышеуказанных факторов в терапевтических целях и, в частности, при нарушениях окислительно-восстановительных процессов, а также местного кровообращения.

ЛИТЕРАТУРА

1. Акопян В. Б., Закарая А. П. Сб. трудов НИИ курортологии и физиотерапии МЗ ГССР, Тбилиси, 28, 103—113, 1967.
2. Акопян В. Б., Закарая А. П. Сообщения АН ГССР, 52, 769—774, 1968.

3. Акопян В. Б., Закарая А. П., Сидамонишвили Н. В., Цитланадзе Г. В. Тезисы докладов конференции молодых ученых и специалистов научного центра биологических исследований. Пушкино-на-Оке, 1971, 56—57.
4. Жук Е. И., Файтельберг—Бланк В. Р. Вопросы курортологии и физиотерапии лечебной физкультуры, 3, 198—201, 1972.
5. Кобахидзе З. Материалы I съезда курортологов Грузии. «Сабста медицина», Тбилиси, 1966, 136—138.
6. Кобахидзе З. В. Сб. трудов НИИ курортологии и физиотерапии МЗ ГССР. Тбилиси, 28, 423—428, 1967.
7. Кобахидзе З. В., Акопян В. Б. Сб. трудов НИИ курортологии и физиотерапии МЗ ГССР, Тбилиси, 28, 455—460, 1967.
8. Кобахидзе З. В., Акопян В. Б., Закарая А. П., Цитланадзе Г. В. Тезисы докл. IV международ. биофизического конгресса. М., 4, 459, 1972.
9. Малышев В. М., Колесник Ф. А. Электромагнитные волны сверхвысокой частоты и их воздействие на человека. «Медицина». Л., 1968, 3—88.
10. Пресман А. С. Материалы II Всесоюз. конференции по применению радиозлектроники в биологии и медицине. М., 1962, 21.
11. Пресман А. С. Успехи совр. биологии, 2, 161—169, 1963.
12. Сынгаевская В. А. Лекции по проблеме СВЧ излучения. Л., 1964, 129.
13. Сывориновский Г. А. Вопросы курортологии, физиотерапии и лечебной физкультуры, 3, 222—227, 1973.
14. Чиркин А. А. Вопросы теории и практ. медицины. Минск, 1971, 215—216.
15. Curven J. H. Proc. Roy. Soc. Med., 46, 331—338, 1953.
16. Schwan H. P., Carstensen E. L. Arch. Phys. Med., 35, 1, 13—19, 1954.
17. Tomberg V. T. Medical Electronics. London, 401—407, 1960.

მაღალი სიხშირის ზოგიერთი ფიზიკური ფაქტორის ცოცხალ
სსოვილებზე სპეციფიური მოქმედების თავისებურებების შესახებ

ზ. კობახიძე, ა. ზაქარაია

საქართველოს სსრ განმრთვლების დაცვის სამინისტროს ი. კონიაშვილის სახ. კურორტოლოგიის და ფიზიოთერაპიის სამეცნიერო კვლევითი ინსტიტუტი, თბილისი

რ ე ზ ი უ მ ე

შრომაში შეისწავლება ცოცხალ ქსოვილთა ზოგიერთი ფიზიოლოგიური და ელექტროფიზიკური პარამეტრების (იმპედანსი, ტემპერატურა, ყანგბადის დაჰაბულობა, სისხლის დინების ლოკალური სიჩქარე) ცვლილების ხასიათი, მათზე ულტრაბგერის, ულტრა და ზემალალი სიხშირის ელექტრომაგნეტური რხევებისა და ინფრაწითელი გამოსხივების მოქმედების დროს. გამოკვლევებმა გვიჩვენეს, რომ ზემოქმედების პროცესში ქსოვილთა ტემპერატურის მომატება და იმპედანსის შემცირება, ინტენსივობისაგან დამოუკიდებლად, საერთოა ყველა ზემოთ აღნიშნული ფაქტორისათვის.

დაბალი ინტენსივობების დროს იმპედანსის აქტიურ და რეაქტიულ მდგენელსა და ტემპერატურას შორის დამზერილი კორელაცია, ირღვევა ფიზიკურ ფაქტორთა მაღალი ინტენსივობების დროს. გამონაკლისს წარმოადგენს ინფრაწითელი გამოსხივება.

აღნიშნულ ფაქტორთა მოქმედებისას აღინიშნება განსხვავება ყანგბადის დაჰაბულობისა და სისხლის დინების ლოკალური სიჩქარის ცვლილების ხასიათში. ასე, მაგალითად, ულტრაბგერისა და ზემალალი სიხშირის ელექტრომაგნეტური რხევები აღიდებენ ყანგბადის დაჰაბულობას ქსოვილებში, მაშინ,

როდესაც ინტენსივობისაგან დამოუკიდებლად, ინფრაწითელი გამოსხივება შესაძლებელია ამცირებს მას.

სისხლის დინების ლოკალური სიჩქარე ზემაღალი სისხლის ელექტრომაგნიტური და ინფრაწითელი გამოსხივების მოქმედებით იზრდება. დაბალი ინტენსივობის ულტრაბგერა სისხლის დინების ლოკალურ სიჩქარეს ზრდის, მაღალი ინტენსივობები კი — პირიქით ამცირებენ მას. აღნიშნულ პარამეტრთა საწყისი მნიშვნელობებისაკენ დაბრუნების სიჩქარე დამოკიდებულია ფაქტორთა ინტენსივობისაგან.

შრომაში გამოთქმულია მოსაზრება ულტრაბგერისა და ზემაღალი სისხლის ელექტრომაგნიტური რხევების დიფერენცირებული გამოყენების შესახებ ქსოვილთა ტროფიკისა და სისხლის ადგილობრივი მიმოქცევის დარღვევის დროს.

ON THE SPECIFIC PECULIARITIES OF THE ACTION OF SOME HIGH-FREQUENCY PHYSICAL FACTORS ON LIVING TISSUES

Z. V. KOBAKHIDZE, A. P. ZAKARIA

Institute of Resort Treatment and Physiotherapy, Georgian Ministry of Health, Tbilisi, USSR

S u m m a r y

The present work deals with some physiological and electrophysical parameters of living tissues (impedance, temperature, oxygen tension and rate of the local blood flow) under the action of ultrasound (US), ultrahigh (UHF) and super-high (SHF) frequency electromagnetic fields and infrared (IR) radiation, used in physiotherapy. The comparative studies have revealed, that all the factors under study, irrespective of their intensity, have certain features in common—the increase of temperature and decrease of impedance. The established correlation between the changes of the active and reactive components of impedance and temperature under the action of low intensity US, UHF, SHF and IR radiation breaks down at high intensities, with the exception of IR radiations. The differences in the action of US, UHF, SHF and IR radiation are observed in regard to changes of the oxygen tension and the rate of the local blood flow. Under the action of US and SHF the oxygen tension in tissues increases, whereas IR radiation tends to reduce it, irrespective of its intensity. The rate of local blood flow under the action of SHF, IR radiation and low intensity US is increased, but at high intensity of US the decrease of this parameter is observed. The rate of the recovery of the changes of the investigated parameters is directly dependent upon the intensity of the factors used. It is suggested that US and SHF should be differentially used in disturbances of the tissue trophics and the local blood flow.

УДК 616.12.313.3:612.173

ФИЗИОЛОГИЯ ЧЕЛОВЕКА И ЖИВОТНЫХ

АКТИВНОСТЬ Na^+ , K^+ АТРазы И K^+ -ПАРАНИТРОФЕНИЛФОСФАТАЗЫ В СЕРДЕЧНОЙ МЫШЦЕ СОБАКИ ПРИ ИШЕМИЧЕСКОЙ И СТРОФАНТИНОВОЙ ФИБРИЛЛЯЦИЯХ ЖЕЛУДОЧКОВ

К. И. Цинцадзе, Ю. В. Шапатава

Институт экспериментальной и клинической терапии Минздрава ГССР, Тбилиси

Поступила в редакцию 13.3.1975

В миокарде собак во фракции сарколеммы изучалась активность Na^+ , K^+ АТРазы и K^+ -паранитрофенилфосфатазы в норме, при фибрилляции желудочков, вызванной высокой перевязкой передней межжелудочковой ветви левой коронарной артерии, и фибрилляции желудочков, вызванной внутривенным введением токсических доз строфантина К (0,15 мг/кг). Установлено, что при фибрилляции желудочков, вызванной высокой перевязкой коронарной артерии и токсическими дозами строфантина К, отмечается подавление активности Na^+ , K^+ АТРазы во всех отделах сердца. При ишемической фибрилляции желудочков K^+ -рНФФаза в миокарде не меняется по сравнению с нормальными данными, а при строфантиновой фибрилляции она подавлена. Mg^{++} АТРаза активируется при строфантиновой фибрилляции и не меняется при ишемической фибрилляции желудочков.

При ишемии миокарда у собак, вызванной перевязкой передней межжелудочковой ветви левой коронарной артерии, отмечается подавление Na^+ , K^+ АТРазы только в зоне ишемии на 49% [3, 4]. При ишемической фибрилляции желудочков, вызванной высокой перевязкой той же артерии, отмечается подавление Na^+ , K^+ АТРазы в левом и правом желудочках в среднем на 70% [4]. При гипоксии миокарда белых крыс, вызванной перфузией раствором азота и углекислоты, также отмечается подавление активности указанной АТРазы на 57%, восстанавливающейся после аэробной перфузии [6].

С другой стороны, известно, что строфантин К является специфическим ингибитором Na^+ , K^+ АТРазы [12], а внутривенное введение токсических доз строфантина вызывает фибрилляцию желудочков [2]. Из вышеизложенного вытекает необходимость изучения состояния Na^+ , K^+ АТРазы в миокарде при строфантиновой фибрилляции желудочков некоронарогенного характера для выяснения некоторых общих сторон патомеханизма возникновения фибрилляции желудочков, как результата расстройства стационарного равновесия и транспорта ионов через клеточные мембраны.

Установлено, что Na^+ , K^+ АТРаза имеет два участка: внутримембранный, активируемый ионами натрия, и наружномембранный, активируемый ионами калия [12]. Для того чтобы судить о второй ступени Na^+ , K^+ АТРазной системы, реакцией дефосфорилирования изучалась активность K^+ -р-нитрофенилфосфатазы (K^+ -рНФФазы).

Опыты ставились на 33 беспородных собаках весом от 12 до 20 кг. Под морфинно-эфирным наркозом и искусственным дыханием выделялась общая сонная артерия для регистрации в ней давления. Под сплошной новокаиновой анестезией вскрывались грудная клетка в V межреберье и перикард. Для вызова ишемической фибрилляции желудочков производилась высокая перевязка передней межжелудочковой ветви левой коронарной артерии. В другой серии опытов фибрилляция желудочков вызывалась внутривенным введением токсических доз строфантина К (0,15 мг на кг веса). Извлекалось сердце, брались левый и правый желудочки, межжелудочковая перегородка и предсердия. Фракция сарколеммы выделялась по Стому [13] и в ней изучалась Na^+ , K^+ АТРазная активность. Среда инкубации для определения активности данной АТРазы в конечном объеме 2 мл содержала 0,5—0,9 мг белка, 120 мМ NaCl , 10 мМ KCl , 5 мМ MgCl_2 и 3 мМ ATP-Na_2 в 40 мМ трис- HCl буфере (рН 7,6—7,8). АТРазную активность измеряли по нарастанию в среде инкубации неорганического фосфора, который определяли по Фиске и Суббароу. За Na^+ , K^+ АТРазу принимали разность величин между суммарной и Mg^{++} АТРазой. Концентрацию белка определяли по Лоури. Для изучения K^+ зависимого компонента АТРазы во фракции сарколеммы определяли K^+ -рНФФ азную активность в среде 20 мМ KCl , 8 мМ MgCl_2 , 5 мМ рНФФ в 40 мМ трис- HCl буфере (рН 7,6—7,8). После инкубации в течение 10 минут при 37°C реакцию останавливали треххлоруксусной кислотой, конечная концентрация которой была 5%. Затем центрифугировали при 3000 об/мин, рН надосадочной жидкости доводили до 9,8 и измеряли оптическую плотность ее при 400 нм. Активность K^+ -рНФФазы определяли по разности ее в инкубационной среде в присутствии ионов калия и без них. Конечную концентрацию продукта реакции фермента определяли с учетом коэффициента молярной экстинкции паранитрофенола.

РЕЗУЛЬТАТЫ ОПЫТОВ

Под влиянием внутривенного введения токсических доз строфантина К артериальное давление сначала растет с 100 ± 5 до 151 ± 16 мм рт. ст. ($P < 0,01$) в течение первых 5 минут после введения, а с 6-й минуты оно начинает падать и в течение 30 минут достигает 85 ± 22 мм рт. ст. В первые 2 минуты после введения строфантина ритм сердца собаки замедляется с 130 ± 21 до 93 ± 26 ударов в минуту ($P < 0,05$). Через $6,7 \pm 2$ минуты наступает желудочковая тахисистолия, а через 30 ± 10 минут — фибрилляция желудочков.

Под влиянием высокой перевязки коронарной артерии артериальное давление падает с 90 ± 10 до 36 ± 8 мм рт. ст. ($P < 0,01$) и в течение двух минут развивается фибрилляция желудочков.

Активность Na^+ , K^+ АТРазы в различных отделах сердца у собак в норме и при разных видах фибрилляции желудочков представлена в табл. 1.

При строфантинной фибрилляции желудочков активность Na^+ , K^+ АТРазы подавляется во всех отделах сердца в левом желудочке на 43%, в правом — на 40%, в предсердиях — на 46%, а в межжелудочковой перегородке даже на 58% по сравнению с нормой. Это сопровождается повышением активности Mg^{++} АТРазы в левом желудочке на 27%, в правом — на 24%, в предсердиях — на 23% и уменьшением ее в межжелудочковой перегородке на 15% по сравнению с нормой.



Таблица 1

Активность Na^+ , K^+ АТФазы в различных отделах сердечной мышцы собак в норме и при различных видах фибрилляции желудочков, $\text{M} \pm \text{m}$.
Мкмоль $\text{P}_\text{н}$ /мг белка/60 мин.

Ионный состав	Левый желудочек, $\text{P}_\text{к}$	Правый желудочек, $\text{P}_\text{к}$	Межжелудочковая перегородка, $\text{P}_\text{к}$	Предсердия, $\text{P}_\text{к}$
Н о р м а				
Na^+ , K^+	$5,00 \pm 0,33$	$4,84 \pm 0,23$	$5,17 \pm 0,26$	$5,12 \pm 0,36$
Mg^{++}	$3,56 \pm 0,21$ $n=9$	$4,12 \pm 0,16$ $n=13$	$4,80 \pm 0,16$ $n=10$	$4,53 \pm 0,20$ $n=8$
Фибрилляция желудочков, вызванная токсическими дозами строфантина \angle				
Na^+ , K^+	$2,85 \pm 0,21$ $<0,001$	$2,89 \pm 0,25$ $<0,001$	$2,17 \pm 0,23$ $<0,001$	$2,78 \pm 0,24$ $<0,001$
Mg^{++}	$5,06 \pm 0,28$ $<0,01$	$5,11 \pm 0,27$ $<0,01$	$4,15 \pm 0,13$ $<0,01$	$5,56 \pm 0,46$ $<0,1$
n	8	7	8	8
Фибрилляция желудочков, вызванная высокой перевязкой коронарной артерии				
Na^+ , K^+	$1,72 \pm 0,25$ $<0,01$	$2,11 \pm 0,16$ $<0,01$	$1,97 \pm 0,24$ $<0,001$	
$\text{P}_{\text{с-н}}$	$<0,01$	$<0,02$	$<0,6$	
Mg^{++}	$4,03 \pm 0,14$ $<0,8$	$4,40 \pm 0,15$ $<0,4$	$4,13 \pm 0,21$ $<0,01$	
$\text{P}_{\text{с-н}}$	$<0,01$	$<0,05$	<1	
n	8	12	10	

$\text{P}_\text{к}$ —достоверность различий в отношении данных нормы.

$\text{P}_{\text{с-н}}$ —достоверность различий между строфантинной и ишемической фибрилляциями желудочков.

n —число животных.

При фибрилляции желудочков, вызванной высокой перевязкой коронарной артерии, резко подавлена активность Na^+ , K^+ АТФазы в левом желудочке на 66%, в правом — на 57%, в межжелудочковой перегородке — на 62% по сравнению с нормой. Mg^{++} АТФаза при этом не меняется в левом (+2% нормы) и правом (+7% нормы) желудочках и понижена лишь в межжелудочковой перегородке на 16% по сравнению с нормой.

Таким образом, как при строфантинной, так и при ишемической фибрилляциях желудочков отмечается подавление активности Na^+ , K^+ АТФазы во всех отделах сердца, а Mg^{++} АТФаза оказывается активированной лишь при строфантинной фибрилляции желудочков и не меняется при ишемической форме ее.

Представляло интерес сравнить состояние данных АТФаз при обоих видах фибрилляции желудочков. Как видно из табл. 1, Na^+ , K^+ АТФаза и Mg^{++} АТФаза больше подавлены при ишемической фибрилляции желудочков в левом и правом желудочках и в межжелудочковой перегородке.

Несмотря на то, что удельная активность фермента Na^+ , K^+ АТФазы резко понижается при обоих видах фибрилляции желудочков, она остается в такой же зависимости от рН инкубационной среды и соотношения ионов натрия к калию, как в мискарде нормальных собак. Максимальная активность фермента выявляется при интервале рН 7,6—7,8 и при соотношении ионов 120 мМ Na^+ /10 мМ K^+ . Изучая

зависимость тормозящего эффекта различных концентраций оубаина на активность Na^+ , K^+ АТФазы, установлено, что при обоих видах фибрилляции желудочков тормозящий эффект при каждой концентрации оубаина был сходным с нормальным, хотя данные активности фермента при фибрилляции желудочков были ниже нормальных. Наибольший тормозящий эффект оубаина наблюдался при его концентрации $5 \cdot 10^{-4}$ М.

Аналогичные данные описывает Баласубраманиан [6] в нормальном миокарде белой крысы и при перфузии сердца гипоксическим раствором. Таким образом, имеется некоторая общность в факте подавления АТФазной активности в сарколемме миокарда при ишемической и строфантиновой фибрилляциях желудочков.

Таблица 2

Активность K^+ -р-нитрофенилфосфатазы в сарколемме разных отделов сердца собак в норме и при различных видах фибрилляции желудочков. $\text{M} \pm \text{m}$. Мкмоль нитрофенил/мг белка/60 мин.

Степень изменения фермента	Левый желудочек	Правый желудочек	Межжелудочковая перегородка	Предсердия
Н о р м а				
n	9	8	8	8
	$0,389 \pm 0,012$	$0,411 \pm 0,019$	$0,402 \pm 0,031$	$0,436 \pm 0,015$
Фибрилляция желудочков, вызванная токсическими дозами строфантина К				
n	8	8	8	8
	$0,204 \pm 0,021$	$0,235 \pm 0,084$	$0,148 \pm 0,013$	$0,192 \pm 0,018$
P_k	$<0,001$	$<0,001$	$<0,001$	$<0,001$
% подавления активности фермента в отношении нормы	-48	-43	-63	-56
Фибрилляция желудочков, вызванная высокой перевязкой коронарной артерии				
n	11	6	5	
	$0,338 \pm 0,021$	$0,396 \pm 0,027$	$0,369 \pm 0,018$	
P_k	$<0,05$	$<0,7$	$<0,7$	
P_{c-n}	$<0,001$	$<0,01$	$<0,001$	
% подавления активности фермента в отношении нормы	-14	-4	-8	
% подавления активности фермента в отношении строфантиновой фибрилляции	-40	-41	-60	

P_k , P_{c-n} , n—обозначения см. в табл. 1.



Для выяснения интимного механизма подавления АТРазной активности при различных видах фибрилляции желудочков, в частности стробантиновой калий-участка фермента при этом изучалась активность K^+ - рНФФазы (табл. 2).

Активность K^+ -рНФФазы оказывается подавленной при строфантиновой фибрилляции желудочков в левом желудочке на 48%, в правом — на 43%, в межжелудочковой перегородке — на 63% и в предсердиях — на 56% по сравнению с нормой. При ишемической фибрилляции желудочков активность данного фермента не отличается от нормы, поэтому она при строфантиновой фибрилляции желудочков подавлена и по сравнению с ишемической фибрилляцией желудочков.

ОБСУЖДЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ

При ишемии миокарда у собак, вызванной перевязкой коронарной артерии, отмечается падение внутриклеточной концентрации калия [10]. Поэтому в крови, оттекающей от коронарного синуса, у собак при фибрилляции желудочков, вызванной высокой перевязкой коронарной артерии, отмечается увеличение концентрации калия на 80% по сравнению с контролем и уменьшение концентрации натрия на 6% [1]. От градиента концентрации ионов калия и натрия по обе стороны клеточной мембраны зависит ее поляризация и возникновение процесса возбуждения в виде потенциала действия. Активный транспорт ионов через клеточную мембрану регулируется Na^+ , K^+ АТРазой [12, 15].

При ишемии миокарда, вызванной перевязкой коронарной артерии, отмечается подавление активности данной АТРазы только в зоне ишемии, в неишемической зоне она не меняется [4]. Данная АТРаза оказывается подавленной и при гипоксии миокарда, вызванной перфузией сердца белой крысы раствором азота и углекислоты, при перфузии его аэробным раствором активность ее восстанавливается [6].

Следовательно, в основе фибрилляции желудочков, вызванной высокой перевязкой коронарной артерии, лежит расстройство активного транспорта ионов натрия и калия через мембраны миокарда благодаря резкому подавлению активности Na^+ , K^+ АТРазы во всех отделах сердца.

При фибрилляции желудочков, вызванной токсическими дозами строфантина К [2], несмотря на то, что при этом не расстраивается коронарное кровообращение и не развивается ишемия миокарда, также отмечается подавление активности Na^+ , K^+ АТРазы во всех отделах сердца. Отсюда возникает предположение, что в основе фибрилляции желудочков как коронарного, так и некоронарогенного характера лежит механизм расстройства активного транспорта ионов натрия и калия. При обоих видах фибрилляции желудочков, как указано выше, оптимум рН и соотношение ионов натрия и калия, а также чувствительность к оубаину не отличаются от данных нормальных животных. Это указывает на сохранность кинетических показателей фермента [6], а изменения $V_{max} Na^+$, K^+ АТРазы, видимо, связаны со структурными изменениями мембраны, в частности ее фосфолипидного состава, как это предполагают Сулак и Дхалла [14] в отношении гипоксии миокарда и при врожденной миопатии сердца хомяков [6,14].

Следует предположить, что эти соображения могут быть отнесены лишь к факту подавления Na^+ , K^+ АТРазы при локальной ишемии миокарда и в еще большей мере к фибрилляции желудочков, вызванной высокой перевязкой коронарной артерии, которая ведет к ишемии двух третей миокарда за сравнительно короткий срок. В пользу этого предположения говорит и факт отсутствия изменения К-участка

Na⁺, K⁺ АТФазы в миокарде при ишемической фибрилляции желудочков.

При строфантиновой фибрилляции желудочков активность Na⁺, K⁺ АТФазы подавлена меньше, чем при ишемической фибрилляции желудочков и кроме того имеется активация Mg⁺⁺ АТФазы. При строфантиновой фибрилляции желудочков подавление активности Na⁺, K⁺ АТФазы связано с тем, что строфантин является специфическим ингибитором ее [12]. При этом отмечается также уменьшение концентрации калия в миокарде [9].

Na⁺, K⁺ АТФаза является главным местом фармакологического действия сердечных гликозидов [11]. В основе ингибирующего действия сердечных гликозидов на Na⁺, K⁺ АТФазу лежат образование комплексов АТФазы и сердечных гликозидов [5] и конформационные изменения ферментной системы, чем и определяется положительный инотропный эффект [7], выход ионов Ca⁺⁺ на уровне потенциала действия [8]. Поэтому применение токсических доз строфантина К должно вести к изменению конформационного состояния ферментной системы Na⁺, K⁺ АТФазы без нарушения целостности мембранной структуры, что ведет к расстройству активного транспорта ионов натрия и калия против электрохимического градиента и способствует развитию фибрилляции желудочков.

В пользу такого предположения говорит и установленный нами факт, что при строфантиновой фибрилляции желудочков подавлен K⁺-участок Na⁺, K⁺ АТФазы. При этом активируется также Mg⁺⁺ АТФаза, чего не наблюдается при ишемической фибрилляции желудочков, тогда как удельная активность Na⁺, K⁺ АТФазы оказывается подавленной при обоих видах фибрилляции желудочков.

ЛИТЕРАТУРА

1. Попова Н. К. Ингибиторы моноаминоксидазы и коронарная недостаточность. «Наука». Новосибирск, 1970, 130—139.
2. Федоров Б. М. Механизмы нарушения и восстановления сердечной деятельности. «Медицина». М., 1968, 3—310.
3. Шапатава Ю. В. Тез. докл. 2-й Всесоюз. конф. по биохимии мышечной системы. Л., 1972, 237—238.
4. Шапатава Ю. В. Совр. проблемы терапии. Сборник трудов института терапии МЗ ГССР, Тбилиси, X, 2, 101—107, 1973.
5. Allen J. C., Harris R. A., Schwartz A. J. Mol. cell. Cardiol., 3, 297—300, 1972.
6. Balasubramanian V., McNamara D. B., Singh J. N., Dhalla N. S. Canad. J. Physiol. Pharmacol., 51, 7, 504—510, 1973.
7. Entman M. L., Allen J. C., Schwartz A. J. Mol. cell. Cardiol., 4, 435—441, 1972.
8. Katz A. M. J. Mol. cell. Cardiol., 4, 87—89, 1972.
9. Lown B., Weller J., Wyatt N., Hoigne R., Merrill J. J. clin. Invest., 31, 648, 1952.
10. Nayler W. G., Stone J., Carson V., Chipperfield D. J. Mol. cell. Cardiol., 2, 125—143, 1971.
11. Potter H. E., Charnock J. S., Opit L. J. Austr. J. exp. Biol. med. Sci., 44, 503—518, 1966.
12. Skou J. C. Physiol. Rev., 45, 596—617, 1965.
13. Stame A. K. Biochim. Biophys. Acta, 189, 304—307, 1969.
14. Sulakhe P. V., Dhalla N. S. Exp. mol. Pathol., 18, 100—111, 1973.
15. Whittham R., Wheeler K. P. Ann. Rev. Physiol., 32, 21—60, 1970.

Na^+ , K^+ ატფაზისა და K^+ -პარანიტროფენილფოსფატაზის აქტივობა ძაღლის გულის კუნთში იზემიური და სტროფანტინული პარკუტოზ ფიბრილაციის დროს

ა. ტინვაძე, ი. შაპათავა

საქ. სსრ ჯანდაცვის სამინისტროს ექსპერიმენტული და კლინიკური თერაპიის ინსტიტუტი, თბილისი

რ ე ზ ი უ მ ე

ძაღლის გულის კუნთიდან გამოყოფილ სარკოლემის ფრაქციაში ისაზღვრებოდა Na^+ , K^+ ატფაზისა და K^+ -პარანიტროფენილფოსფატაზის აქტივობა ნორმის, გულის მარცხენა გვირგვინოვანი არტერიის პარკუტოზო ტოტის მაღალ დონეზე გადანაკვნით გამოწვეული პარკუტოზ ფიბრილაციისა და სტროფანტინ K -ს ტოქსიური დოზის (0,15 მგ/კგ) ვენაში შეყვანით გამოწვეულ პარკუტოზ ფიბრილაციის დროს. მიღებული მონაცემების საფუძველზე დადგინდა, რომ აღნიშნული მიზეზით განვითარებული პარკუტოზ ფიბრილაციის შემთხვევაში გულის ყველა უბანში აღინიშნება Na^+ , K^+ ატფაზის აქტივობის შემცირება.

მიოკარდში K^+ -პარანიტროფენილფოსფატაზის აქტივობა ნორმისთან შედარებით არ იცვლება იზემიის ფონზე განვითარებული პარკუტოზ ფიბრილაციის დროს, ხოლო სტროფანტინული ფიბრილაციის შემთხვევაში მკვეთრად მცირდება.

Mg^{++} ატფაზა სტროფანტინული ფიბრილაციის დროს აქტივდება, ხოლო იზემიის ფონზე განვითარებული პარკუტოზ ფიბრილაციის დროს ცვლილებას არ განიცდის. ამრიგად, პარკუტოზ ფიბრილაციის განვითარების მექანიზმში გარკვეული როლი უნდა მიენიჭოს Na^+ , K^+ ატფაზის აქტივობის შემცირებას.

ACTIVITY OF CARDIAC Na^+ , K^+ -STIMULATED ATPase AND K^+ -PARANITROPHENYLPHOSPHATASE IN ISCHEMIC AND STROPHANTINE— K FIBRILLATIONS OF VENTRICLES IN DOGS

K. I. TSINTADZE, Yu. B. SHAPATAVA

Institute of Therapy, Ministry of Health of Georgian SSR, Tbilisi

S u m m a r y

Experiments were carried out on 33 dogs. Under morphine-ether anesthesia the chest was opened and Na^+ , K^+ -ATPase and K^+ -paranitrophenylphosphatase activities in the fraction of sarcolemma were studied in several parts of the heart in normal dogs, during fibrillation of ventricles caused by high ligation of the left coronary artery and in other experiments during fibrillation of ventricles caused by intravenous injection of toxic doses of strophantine K. During ischemic and strophantine fibrillations of ventricles the activity of Na^+ , K^+ ATPase is decreased in all parts of the heart. During the ischemic fibrillation of ventricles the activity of K^+ -paranitrophenylphosphatase does not differ from the normal, while during strophantine fibrillation it is decreased. Mg^{++} ATPase activity is increased in strophantine fibrillation and does not differ from the normal in ischemic fibrillation of ventricles.

УДК 591.3

ЭМБРИОЛОГИЯ

О МЕХАНИЗМЕ «ПУСКА» ГАСТРУЛЯЦИИ

Т. Д. Климишвили, Г. Д. Туманишвили

Тбилисский государственный университет, Институт экспериментальной морфологии
им. А. Н. Натцишвили АН ГССР, Тбилиси

Поступила в редакцию 10.12.1974

На зародышах выюна *Misgurnus fossilis* L. изучались механизмы, регулирующие процесс гастрюляции. Высказано предположение, что в ядрах клеток зародышей выюна локализован фактор, который, достигнув критической концентрации, обуславливает начало гастрюляции. Ядерная и цитоплазматическая фракции клеток зародышей выюна на разных стадиях развития (средняя бластула, средняя и поздняя гастрюла), полученные путем центрифугирования в двуслойном градиенте сахарозы, добавлялись в среду с бластодермами, изолированными на стадии поздней бластулы (8—9-й час развития). При добавлении в среду клеточных фракций в бластодермах-реципиентах наблюдается ускорение процесса гастрюляции.

Несмотря на то, что обе фракции вызывают сходный эффект, возраст доноров имеет значение для характера действия факторов, регулирующих начало гастрюляции.

В настоящее время природа сигналов, определяющих наступление гастрюляции, неизвестна. На этот счет было высказано несколько предположений, в какой-то мере относящихся к молекулярной природе этого явления. Так, Н. Н. Ротт и Г. А. Шевелева [6] считали критическим параметром для наступления гастрюляции ядерно-плазменное отношение клеток зародыша. Впоследствии упомянутое соображение было несколько видоизменено и было принято, что решающей величиной в этом отношении является отношение количества ДНК к объему цитоплазмы клеток [5]. В обоих случаях авторы исходили из предположения, что наступление гастрюляции определяется простой суммой независимых событий, происходящих в клетках зародыша. Однако, как было показано на бластодермах выюна, клетки зародыша перед гастрюляцией находятся в различных состояниях, обуславливая неоднородность в зародыше [3]. Кроме того, в гастрюлу вступают раньше клетки базального слоя бластодермы, характеризующиеся наименьшей величиной ядерно-плазменного отношения, а следовательно и отношением количества ДНК к объему цитоплазмы.

Несомненно, однако, что для наступления гастрюляции большое значение имеет общее отношение числа ядер к объему зародыша. Ясно, что по мере дробления это отношение заметно возрастает. Тем не менее, и оно не является параметром, определяющим гастрюляцию, поскольку гаплоидные зародыши лягушек и выюна проходят одним синхронным делением больше, чем диплоидные [7, 14]. На этом основании М. Я. Тимофеева с соавторами [7] высказала предположение, что величиной, обуславливающей наступление гастрюляции, является ко-

личество ДНК на зародыш. На основании имеющихся в литературе и приведенных здесь данных одним из нас была высказана точка зрения, согласно которой важное значение придается концентрации ДНК в клеточной популяции [8, 9, 10, 11]. Такое допущение требует признания существенной роли межклеточных взаимодействий. Следовательно, и наступление гастрюляции может быть кооперативным процессом, а взаимодействие клеток должно осуществляться веществами, легко диффундирующими от клетки к клетке. Так как по мере дробления в зародыше число ядер возрастает, а объем зародыша не меняется, мы предположили, что в ядрах локализован фактор, который, достигнув критической концентрации, обуславливает начало гастрюляции. Возможно, его количество на ядро прямо зависит от количества ДНК в ядрах.

Для проверки выдвинутого нами предположения были предприняты опыты с воздействием внутриклеточными фракциями зародышей на зародыши, находящиеся на стадиях, предшествующих гастрюле. Ожидалось ускорение наступления гастрюляции вследствие действия на зародыши ядерной фракцией.

МАТЕРИАЛ И МЕТОДИКА

Опыты проводили на изолированных бластодермах зародышей вьюна *Misgurnus fossilis*. Икру получали через 40 часов после введения самкам хориогонина. Стадии развития выражали в часах развития при 21°C по Нейфаху [4]. Бластодермы отделяли от желтка центрифугированием икринок в двуслойном градиенте сахарозы [2]. Ядерную и цитоплазматическую фракции получали центрифугированием изолированных бластодерм в 0,5 М растворе сахарозы при 600—700 г в течение 10 минут.

Изолированные от желтка бластодермы зародышей на стадии поздней бластулы (8—9-й час развития) помещали в раствор Гольцфрета-ра двукратной концентрации. Туда же добавляли клеточные фракции.

Донорами брали зародышей на стадии бластул, а также средней и поздней гастрюлы (8, 9, 11, 12, 14, 15, 16, 17, 18 и 19 час развития).

Параллельно имелись контрольные зародыши, бластодермы которых помещали в чистый раствор Гольцфрета-ра.

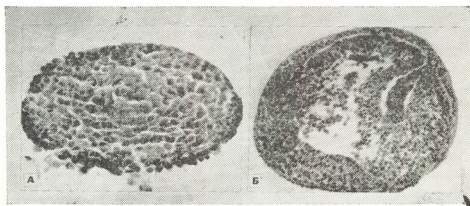


Рис. 1. Микрофотография изолированных от желтка бластодерм зародышей вьюна на стадии бластулы (А) и гастрюлы (Б)

Через 2—3 часа инкубации бластодермы фиксировали в смеси Карнуа, тотально красили спиртовым борным кармином, заключали в па-

рафин, резали на серийные срезы толщиной 6 м, срезы докрасили гематоксилином по Гейденгайну. На препаратах сравнивали процент бластодерм, достигших стадии гастрюлы в опыте и контроле (рис. 1).

РЕЗУЛЬТАТЫ ОПЫТОВ

Результаты проведенных опытов изображены на рис. 2 и 3. Из приведенных данных следует, что обе фракции вызывают сходный эффект, однако действие ядерной фракции выражено более отчетливо, чем цитоплазматической.

Проведены две серии опытов: в одном случае реципиентами служили зародыши на стадии бластулы 8-го часа развития, инкубация в среде с клеточными фракциями длилась 3 часа; в другом — бластулы 9-го часа развития, инкубация — 2 часа.

В первой серии опытов ядерная фракция вызывает ускорение начала гастрюляции во всех вариантах, но с разной интенсивностью. Кривая, отражающая действие ядерной фракции клеток зародышей выюна на разных стадиях развития, имеет волнообразный характер, тогда как цитоплазматическая фракция не всегда вызывает эффект стимуляции. На стадии 11-часового и 18-часового развития цитоплазматическая фракция не вызывает ускорения процесса гастрюляции. Кроме того, во всех вариантах этой серии действие цитоплазматической фракции выражено заметно слабее.

Во второй серии опытов картина несколько изменена. В основном, ускорение начала гастрюляции отмечено во всех вариантах опытов, но здесь встречается случай (доноры — 12-й час гастрюлы), когда ядерная фракция не вызывает эффекта, в то время как цитоплазматическая фракция дает максимум (для цитоплазматической фракции) стимуляции и кроме того в случае, когда донорами были 17-часовые гастрюлы, действие цитоплазматической фракции было выражено сильнее, чем ядерной.

ОБСУЖДЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ

Полученные результаты подтверждают предположение о существовании в клетках зародышей химического фактора, принимающего участие в запуске процесса гастрюляции. Поскольку это вещество способно проникать в клетки зародыша из ядер и цитоплазмы, помещенных в среду, вполне вероятным представляется нам и предположение о том, что этот фактор осуществляет межклеточные взаимодействия, вовлекая в процесс гастрюляции все клетки бластодермы.

Наши заключения противоречат данным Г. В. Донцовой и соавт. [1], показавших на зародышах морского ежа *Strongilocentrotus nudus*, что синтез высокополимерной РНК происходит одинаково в целых зародышах и диссоциированных клетках. На этом основании авторы приходят к выводу, что синтез высокополимерной РНК запускается в клетках автономно, вследствие увеличения ядерно-цитоплазматического отношения. Однако диссоциированные клетки зародышей в проводимых опытах инкубировались в малом объеме среды и даже собирались в агрегаты. В таких условиях фактор, ускоряющий гастрюляцию (ФУГ), мог беспрепятственно диффундировать из клетки в клетку по среде. При этом необходимо предположить, что наступление гастрюляции находится в тесной связи с началом синтеза высокополимерной РНК.

Возможно, фактор, ускоряющий гастрюляцию выюна, идентичен корректирующему фактору, обнаруженному Бриггсом и его сотрудниками в зародышах аксолотля на ранних стадиях их развития [12,

131. Как известно, отсутствие этого фактора в некоторых мутантах приводит к «застреванию» их зародышей на стадии ранней гаструлы. Тем не менее, к подобному сходству в действии факторов следует относиться осторожно. Действительно, корректирующий фактор Бриггса не удается обнаружить среди растворимых компонентов клеток зародыша позже поздней бластулы, в то время как нами эффект был получен при применении клеточных фракций зародышей, достигших поздней гаструлы. Кроме того, мы не имеем никаких сведений о том, как влияет корректирующий фактор на наступление гаструляции.

Вопрос о локализации ФУГ представляется сложным. В настоящее время мы не располагаем данными, позволяющими окончательно решить его. Казалось бы, из опытов, в которых применялись реципиенты 8-го часа развития, однозначно следует вывод, что ФУГ преимущественно локализован в ядрах клеток. Волнообразность кривой на рис. 2

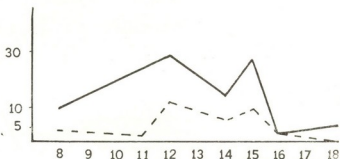


Рис. 2. Действие клеточных фракций зародышей вьюна на разных стадиях развития на наступление гаструляции в изолированных бластодермах вьюна (реципиент—8-часовые бластулы). — ядерная фракция, --- цитоплазматическая фракция. По оси ординат—процент бластодерм, вступивших в стадию гаструлы, по оси абсцисс—часы развития доноров

могла зависеть от выхода ФУГ из ядер порциями, вследствие чего в определенные моменты ядра почти не содержат его. Однако в таком

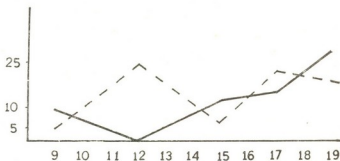


Рис. 3. Действие клеточных фракций зародышей вьюна на разных стадиях развития на наступление гаструляции в изолированных бластодермах вьюна (реципиент—9-часовые бластулы). Обозначения те же, что на рис. 2

случае должно было соответственно повышаться количество ФУГ в цитоплазме. Кроме того, в опытах с 9-часовыми реципиентами цитоплаз-



матическая фракция производит более значительный эффект, чем ядерная. Вместе с тем, трудно предположить, что ФУГ скапливается в цитоплазме, поскольку по мере приближения к стадии гастрюлы относительный объем цитоплазмы уменьшается, а ядер увеличивается. Нам кажется несомненным, что контроль над процессом гастрюляции зависит не только от количества и активности соответствующих факторов, но и от чувствительности к ним клеток зародыша, состояние которого меняется от стадии к стадии.

ЛИТЕРАТУРА

1. Донцова Г. В., Толсторуков И. И., Нейфах А. А. Онтогенез, 1, 604—607, 1970.
2. Костомарова А. А. В сб.: Клеточн. дифференц. и индукц. механьз. «Наука». М., 1965, 160—73.
3. Костомарова А. А., Нечаева Н. В. Онтогенез, 1, 391—397, 1970.
4. Нейфах А. А. Журн. общ. биол., 20, 3, 202—213, 1959.
5. Ротт Н. Н., Костомарова А. А. В сб.: Межклеточн. взаимодействия в дифференцировке и росте. «Наука». М., 1970, 24—32.
6. Ротт Н. Н., Шевелева Г. А. Цитология, IX, 1265—1275, 1967.
7. Тимофеева М. Я., Кафияни К. А., Нейфах А. А. В сб.: Структура и функция клеточн. ядра. «Наука». М., 1967, 201—206.
8. Туманишвили Г. Д. В сб.: Вопр. биофиз. и теор. биологии. ТГУ, 1968, 9—14.
9. Туманишвили Г. Д. В сб.: Межклеточн. взаимодействия в дифференцировке и росте. «Наука». М., 1970, 7—20.
10. Туманишвили Г. Д. Цитология, XV, 635—642, 1973.
11. Туманишвили Г. Д., Саламатина Н. В. Взаимодействие, дифференцировка и рост клеток. «Мецниереба», Тбилиси, 1973.
12. Briggs R., Gloria Gassens. Proc. Nat. Acad. Sci. USA, 55, 1103—1109, 1966.
13. Briggs R., Justus J. Exp. Zool., 167, 105—116, 1968.
14. Graham C. F. Exp. Cell Res., 43, 13—19, 1966.

ბასტრუშაჯინის „ბამშვიბი“ მემბანიზმების შესწავლისათვის

თ. კლინიკიშვილი, ბ. თუშანაშვილი

თბილისის სახელმწიფო უნივერსიტეტი, საქართველოს სსრ მეცნიერებათა აკადემიის ალ. ნათიშვილის სახ. ექსპერიმენტული მორფოლოგიის ინსტიტუტი, თბილისი

რ ე ზ ი უ მ ე

ძვლოვანი თევზის, ხლაყუნას — *Misgurnus fossilis* — ჩანასახებზე შესწავლება გასტრულაციის პროცესის მარეგულირებელი მექანიზმები.

არეში, სადაც მოთავსებული იყო გვიანი ბლასტულის სტადიაზე მყოფი ყვითრისაგან იზოლირებული ბლასტოდერმები, ხლაყუნას იმავე ან განვითარების სხვა სტადიებზე აღებული ჩანასახების უკრედთა ბირთვული და ციტოპლაზმური ფრაქციების დამატებით, ხელოვნურად ვკმნიდით გასტრულაციის დაწყებისათვის საჭირო ფაქტორების კრიტიკულ (სახლურბლუ) კონცენტრაციას. დადგინდა, რომ რეციპიენტ-ბლასტოდერმებში გასტრულაცია იწყება უფრო ადრე, ვიდრე საკონტროლო ბლასტოდერმებში.



STUDY OF GASTRULATION "TRIGGERING" MECHANISM

T. D. KLIMIASHVILI, G. D. TUMANISHVILI

The Tbilisi State University, Institute of Experimental Morphology, Georgian Academy of Sciences, Tbilisi, USSR

S u m m a r y

The mechanisms controlling the gastrulation in loach *Misgurnus fossilis* L. embryos were studied.

With the addition of nuclear and cytoplasmic fractions from late blastula, in early, mid and late gastrula stages, to the medium of the cultivated blastoderms isolated in the late blastula stage, we have created the critical concentration of factors which are necessary for the onset of the gastrulation process. It is established that the gastrulation in recipient blastoderms begins earlier than in control.

УДК 616.127.689.84

ЦИТОЛОГИЯ

ЭЛЕКТРОННОМИКРОСКОПИЧЕСКИЕ ИССЛЕДОВАНИЯ РЕПАРАТИВНОЙ РЕГЕНЕРАЦИИ ДЕФЕКТОВ КОСТИ НИЖНЕЙ ЧЕЛЮСТИ ПОСЛЕ ПРИМЕНЕНИЯ МИКРОЭЛЕМЕНТОВ КРЕМНИЯ И ФТОРА

О. Д. Немсадзе, Т. М. Непаридзе

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

Поступила в редакцию 6.12.1974

Изучена ультраструктура регенерирующей костной ткани нижней челюсти под влиянием микроэлементов кремния и фтора. Электронномикроскопические исследования показали, что совместное действие микроэлементов кремния и фтора усиливает синтетические процессы в остеобластах регенерата (маргинация хроматина, хорошо выраженные поры в оболочке ядра, сильно выраженный эндоплазматический ретикулум и сложный аппарат Гольджи). В межклеточных веществах ускоряется выявление кальцифицированных частиц.

Кремний и фтор стимулируют остеогенетические процессы в костной ткани нижней челюсти, усиливая синтетические функции клеточных элементов и ускоряя кальцификацию межклеточного вещества.

В литературе имеются данные клинического и экспериментального характера о стимулирующем влиянии микроэлементов фтора и кремния на процесс репаративной регенерации костной ткани. Так, Пердок [6] установил, что в обычных условиях кристаллы оксиапатита не образуются без присутствия фтора, а в обызвествленных тканях формирование зародышевых кристаллов происходит не только под влиянием молекулы коллагена, но и под воздействием ионов фтора. По данным А. Я. Рапппорта [3], у животных, получавших фтористый натрий, отмечается усиленное разрастание костной ткани и быстрая ее осификация по сравнению с интактными.

С. Н. Праведников и Г. Д. Габович [2] отмечают, что у крыс под действием микроэлемента фтора наблюдается более интенсивный рост хондрондной и остеондной тканей, особенно в течение первых 10 дней после операции.

Немаловажное значение для нормального роста и развития костной ткани имеет и другой микроэлемент — кремний. Соединения кремния препятствуют распространению дистрофических процессов, кроме того, играют определенную роль в биосинтезе коллагена [1]. Бурхардт [см. 4] в эксперименте наблюдал ускоренное образование костной мозоли после применения взвеси силиката кальция. Кнапостом и Еффингером [5] показано благоприятное влияние сочетанного применения кремния и фтора на костную ткань крыс при экспериментальном рахите. После введения *per os* и внутримышечно кремнефтористого натрия (Na_2SiF_6) патологический процесс полностью был купирован.



Исходя из вышеизложенного, целью настоящего исследования было изучение внутриклеточной перестройки костной ткани в ходе ративной регенерации после применения фтора и кремния с учетом изменений в тех конкретных ультраструктурах, которые непосредственно участвуют в синтезе и накоплении основного вещества межклеточной ткани.

МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ

Для решения поставленной задачи проведены экспериментальные исследования на 12 кроликах-самцах породы шиншилла в возрасте 4—5 месяцев (вес кроликов — 2,2—2,5 кг).

Под инфильтрационной анестезией 0,25% раствором новокаина обнажили наружную поверхность тела нижней челюсти. Электродрелью с помощью фрезы формировали отверстие диаметром 6 мм. Полость промывали 3% раствором перекиси водорода. Рану зашивали наглухо. В мягкие ткани вводили антибиотик (пенициллин 100 000 ед.).

Подопытной группе кроликов ежедневно вводили микроэлементы фтор и кремний внутримышечно в виде водного раствора кремнефтористого натрия из расчета 0,1 мг фтора и 0,025 мг кремния на кг веса животного. Контрольной группе (6 животных) делали инъекцию дистиллированной воды.

Кролики находились в обычных условиях вивария. Характер пищи не менялся. Через 7 и 14 дней после операции животных обеих (по 3 в каждой) групп забивали и брали материал для электронномикроскопического исследования. Участки ткани из области костного регенерата размером 2×1 мм фиксировали в охлажденном 1% растворе четырехокси осмия, приготовленного на фосфатном буфере в течение двух часов. Материал заключали в аральдит. Срезы получали на ультратоме фирмы Райхерт, пользуясь стеклянными ножами, контрастировали лимоннокислым свинцом и изучали в электронных микроскопах Tesla 500 и Tesla 513а при увеличении от 10 000 до 120 000.

РЕЗУЛЬТАТЫ

На 7-й день после операции у контрольных животных на электрограммах в области дефекта нижней челюсти в межклеточном веществе отмечается пролиферация волокон (рис. 1). Наблюдаются также скопления волокон без выраженной характерной периодичности. Клеточная мембрана имеет обычную структуру. В цитоплазме обнаруживается хорошо развитая система гранулярного эндоплазматического ретикулума, преимущественно в виде мелких цистерн. На мембранах — гиперплазия рибосомальных частиц. Ядро овальной формы, поры в ядерной мембране расширены, хроматин концентрируется в основном вдоль нуклеолеммы, центральная зона ядра заполнена содержимым низкой электронной плотности (рис. 1). Межклеточное пространство было еще не кальцифицировано и имело вид аморфной гомогенной структуры.

У животных подопытной группы спустя 7 дней после операции в межклеточном веществе коллагеновые волокна выявляются как из продольных, так и на поперечных срезах. Кальцифицирующиеся частицы иногда имели вид изолированных игольчатых скоплений. В цитоплазме отмечается увеличение размеров и количества всех мембранных структур: эндоплазматический ретикулум содержит большое количество рибосом, расширенные вакуоли аппарата Гольджи содержат гомогенное содержимое. Митохондрии увеличены, имеют плотный конденсированный

матрикс. Поры в ядерной мембране хорошо выражены, хроматин сканируется вдоль ее внутренней мембраны (рис. 2).

Спустя 14 дней после операции у животных контрольной группы в межклеточном веществе регенерата были видны кальцифицированные

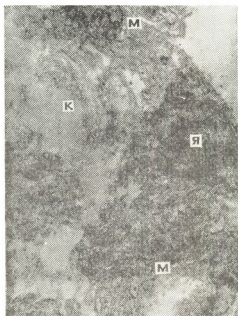
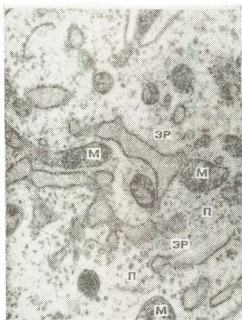


Рис. 1. 7-й день после операции. Контроль. Регенерирующий участок костной ткани. Коллагеновые фибриллы (К) и фибробласт, плотно группирующиеся друг с другом. Ядро (Я) имеет двойную мембрану. Отмечаются обширные митохондрии (М). ув. 10 000

частицы. Они различались как осмофильные, овальные или сферические точки на поверхности волокон. В некоторых местах межклеточные пространства были еще не кальцифицированы. В цитоплазме клеток — гиперплазия канальцев эндоплазматического ретикулума и аппарата

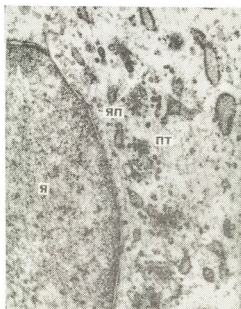
Рис. 2. 7-й день после операции. Опыт. Остеобласт из регенерирующего участка костной ткани. Скопление большого количества свободных полисом в виде розеток (П). Увеличение числа митохондрий (М) с плотным, конденсированным, мелкогранулярным матриксом, расширенные вакуоли эндоплазматического ретикулума (ЭР)



Гольджи, большое количество гранул. Митохондрии овальной, округлой формы, тесно взаимосвязаны с мембранными системами клетки. Вокруг

скоплений гликогена в больших количествах концентрируются свободные рибосомы и полисомы. Ядро электронноплотное, двуслойность ядерной мембраны четко контурируется, поры расширены. Хроматин концентрируется вдоль нуклеолеммы (рис. 3).

Рис. 3. 14-й день после операции. Контроль. Osteoblast из регенерирующего участка костной ткани. Ядро osteoblasta (Я)—маргинация хроматина, увеличение размеров пор (ЯП). Просветление матрикса цитоплазмы. Расширены вакуоли и цистерны гранулярного эндоплазматического ретикулаума, скопление множества «плотных» телец (ПТ), ув. 36 000



У животных, получавших микроэлементы, на 14 день после операции в межклеточном веществе наблюдались участки кальцификации как в виде изолированных групп, так и в форме самостоятельно формирующихся иголок.

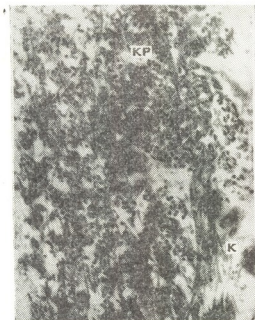



Рис. 4. 14-й день после операции. Опыт. Кальцифицирующийся матрикс регенерирующего участка костной ткани. Кальцифицирующие частицы (Кр), различные как черные точки и иголки, располагающиеся параллельно фибриллам коллагена (К), ув. 16 000

мирующихся иголок. По сравнению с контрольными животными, у подопытных этот процесс был выражен интенсивнее (рис. 4). Клеточная мембрана osteoblastов исчезала по мере прогрессирования кальци-



кации. Образовавшиеся в цитоплазме вакуоли, связанные с плазматической мембраной, имели вид запустевших телец, некоторые содержали волокнистый материал низкой электронной плотности. Характерным для остеобластов было образование пластинчатых и мешочкообразных цистерн эндоплазматического ретикулума. Гиперплазия аппарата Гольджи сочеталась с удлинением его цистерн и увеличением их объема и числа. Лизосомы скапливались в перинуклеарном пространстве и вблизи аппарата Гольджи. В ядрах отмечалось уплотнение глыбок хроматина и их аккумуляция под ядерной мембраной.

ОБСУЖДЕНИЕ

Во многих электронномикроскопических исследованиях фибробласт, хондробласт и остеобласт сравниваются с секреторными клетками, аналогично которым они участвуют в образовании первичных структур межклеточной соединительной ткани.

В цитоплазме дифференцированных хондробластов и остеобластов наблюдаются многочисленные тонкие волокна. Они концентрируются в периферических районах клетки, ориентируясь параллельно клеточной мембране и располагаясь близко к ней; по-видимому, эти волокна представляют раннюю стадию скопления тропоколлагеновых молекул. Выведение коллагеновых предшественников происходит благодаря нарушению целостности цитоплазматической мембраны.

Дальнейший рост и созревание фибрилл идет в экстракеллюлярном пространстве на значительном расстоянии от клеток. Здесь коллагеновые фибриллы приобретают характерную структуру и собираются в пучки. Сочетанно протекают процессы накопления гликогена. Гликоген, перемещаясь к периферии клетки, располагается в непосредственной близости от цитоплазматической мембраны. Выходя за пределы остеобласта в межклеточную ткань, гликоген входит в состав аморфной субстанции основного вещества.

В остеобластах обнаруживается интенсивно развитый аппарат Гольджи. Наряду с плоскими цистернами, появляется много мелких пузырьков с электронноплотным гомогенным содержимым. Впоследствии содержимое вакуолей опорожняется в матрикс основного вещества, расширяется зона и площадь контактов аппарата Гольджи с другими ультраструктурами, в частности лизосомами. Обнаружение в лизосомах фосфолипидов и ШИК-положительного вещества дает основание предполагать, что лизосомы остеобластов, по-видимому, принимают участие в образовании межклеточной субстанции. Митохондрии доставляют энергию, необходимую для построения пластического материала клетки в ходе полноценной репарационной регенерации. В остеогенных клетках наблюдаются характерные изменения ядра, а именно: гранулы хроматина уплотнены, гетерохроматин вплотную подступает к ядерной мембране. Этот факт говорит о возможном усилении синтетических процессов в ядре.

Как видно из результатов, в процесс остеогенеза вовлечены все органеллы остеогенной клетки. Этот процесс можно направлять воздействием на ультраструктуру органоспецифическими стимуляторами.

Из наших экспериментов видно, что в остеогенных клетках регенерата подопытных животных обнаруживается комплекс изменений в виде обилия митохондрий и лизосом, сильно разветвленной сети эндоплазматического ретикулума и аппарата Гольджи по сравнению с контрольными животными. У подопытных более интенсивно происходит образование и кальцификация коллагена (на 7-й день после операции). Этот же процесс у контрольных животных обнаруживается поз-



днее. В этом, по нашему мнению, и сказывается стимулирующее влияние микроэлементов фтора и кремния. Как отмечалось, кремний интенсифицирует биосинтез коллагена, а фтор способствует образованию зародышевых кристаллов осификации.

ЛИТЕРАТУРА

1. Воронков Т. Г., Зелчан Г. И., Луковец З. Я. Кремний и жизнь. Рига. 1971.
2. Праведников С. Н., Габович Р. Д. Срт., травмат. и прот., 7, 135—136, 1956.
3. Раинпорт А. Я. Фармакология и токсикология, XII, 50—53, 1949.
4. Эльяшев А. И. Регенерация костной ткани и способы ее стимуляции. Л., 1939. 92.
5. Knappwost A., Eifinger A. Dtsch. Lanhaz., ztl. 11, 4, 202—211, 1956.
6. Perdok W. Arch. Oral Biol. Suppl., 85—93, 1953.

ქვედაჯინს დეფექტების ოსტეოგენეზზე მიკროელემენტების სილიციუმისა და ფტორის ბავლენის ელექტრონომიკროსკოპული დახასიათება

ო. ნემსაძე, თ. ნეპარიძე

საქართველოს სსრ მეცნიერებათა აკადემიის ალ. ნათიშვილის სახ. ექსპერიმენტული მორფოლოგიის ინსტიტუტი, თბილისი

რ ე ზ ი უ მ ე

ელექტრონომიკროსკოპულმა გამოკვლევებმა გვიჩვენეს, რომ მიკროელემენტების სილიციუმისა და ფტორის გავლენით ადგილი აქვს სინთეზური პროცესების გაძლიერებას ქვედაჯინს ძვლის რეგენერატის ოსტეობლასტებში (ქრომატინის მარგინაცია, კარგად გამოხატული ფორები ბირთვის გარსში, ძლიერად გამოხატული ენდოპლაზმატური რეტკულუმი და გოლჯის რთული აპარატი), უჯრედშიდა ნივთიერებაში ჩქარდება კალციფიცირებული ნაწილაკების გამოვლენა. მიღებული მონაცემები საფუძველს გვაძლევს დავასკვნათ, რომ მიკროელემენტების სილიციუმის და ფტორის ერთდროული შეყვანა ორგანიზმში იწვევს ოსტეოგენეზის სტიმულირებას უჯრედოვანი ელემენტების სინთეზური ფუნქციის გაძლიერებისა და კალციფიკაციის დაჩქარების გზით.

ELECTRON MICROSCOPIC CHARACTERISTICS OF OSTEOGENY OF OSSEOUS TISSUE DEFECTS ON LOWER JAW UNDER THE ACTION OF TRACERS: SILICON AND FLUORINE

O. D. NEMSADZE, T. M. NEPARIDZE

Institute of Experimental Morphology, Georgian Academy of Sciences, Tbilisi, USSR

S u m m a r y

Effect of tracers of silicon and fluorine on the processes of reparative regeneration of lower jaw osseous tissue was studied electron microscopically in the rabbits. Parenteral introduction of 0.025 mg of silicon and of 0.1 mg of fluorine per kg of the animal weight causes acceleration of regeneration processes in osseous tissue of the lower jaw, by means of acceleration of differentiation and proliferation of cell elements. At the same time calcification of intercellular substance is stimulated.

УДК 577.154.31

БИОХИМИЯ

ИММОБИЛИЗАЦИЯ ГЛЮКОАМИЛАЗЫ НА СИЛИКАТНЫХ НОСИТЕЛЯХ

Г. И. Квеситадзе, З. В. Тохадзе,
М. Ш. Двали, Ц. Р. Брегвадзе, Т. Я. Фрайкина

Институт биохимии растений АН ГССР, Тбилиси

Поступила в редакцию 28.1.1975

Глютаральдегидным, карбодимидным способами и методом диазосочетания получены нерастворимые формы глюкоамилазы на стеклянных шариках и силихроме. Изучены термостабильность и влияние рН инкубационной среды на активность фермента. Установлено, что нерастворимая форма обладает более широким диапазоном рН-действия по сравнению с растворимой глюкоамилазой. рН-оптимум нерастворимой формы фермента по сравнению с растворимой сдвинут от слабокислого значения рН (4,7) в нейтральную сторону (6,0). При хранении нерастворимого фермента как в виде порошка, так и в виде водной суспензии при +4°C в течение двух месяцев активность фермента не изменялась. Пятидесятикратное повторение специфической реакции практически не изменяло активности нерастворимой глюкоамилазы.

В последнее время внимание исследователей направлено на получение активных ферментных матриц на неорганических и органических носителях. Преимущество иммобилизованных, нерастворимых форм ферментов по сравнению с растворимыми заключается в том, что они позволяют многократно использовать эти ферменты без существенной потери активности, в то время как обычные растворимые формы ферментов используются практически только однократно. Из существующих в настоящее время разных способов иммобилизации наибольшее предпочтение отдается методу ковалентного присоединения фермента к носителю, поскольку этот метод позволяет получать действительно нерастворимые препараты с наиболее пролангированным характером действия [4, 5, 12].

Исключительно широкий диапазон применения нерастворимых ферментов в практическом отношении ставит задачи получения эффективных форм иммобилизованных ферментов. Большое значение в этом плане имеет фермент глюкоамилаза (К.Ф.3.2.1.3. α -D-1,4-глюкан-глюкогидролаза), полностью гидролизующий крахмал и подобные поли- и олигосахариды с α -1,4 и α -1,6-глюкозидными связями до D-глюкозы. За последние два года опубликовано несколько работ, посвященных иммобилизации глюкоамилазы на пористом стекле [2, 3, 9, 11]. Целью настоящей работы явилось ковалентное связывание и изучение иммобилизованных форм глюкоамилазы на стеклянных шариках и силихроме глютаральдегидным и карбодимидным способами, а также методом диазосочетания.

В работе применяли препараты глюкоамилазы, полученные после осаждения этиловым спиртом из фильтратов глубинных культур плесневых грибов рода *Asp. niger* 475 и *Asp. awamori* 100 (мутант).

В качестве носителей использовали стеклянные шарики (*Controlled Pore Glass* CPG-10, Англия) и силихром С-80. Силикаты предварительно активировали нагреванием при 650°C в течение 8 часов. Затем каждый из них обрабатывали 10%-ным раствором γ -аминопропилтриэтоксисилана в абсолютном толуоле кипячением в течение 32 часов в соответствии с методикой [8]. После этого силикаты отфильтровывали, тщательно промывали толуолом и ацетоном и высушивали при комнатной температуре. В результате такой предварительной обработки силикаты готовы для иммобилизации применяемыми в работе методами.

Иммобилизацию глюкоамилазы при помощи глутарового альдегида проводили следующим образом [10]: к 2,0 г аминосилката добавляли 25 мл 1%-ного водного раствора глутарового альдегида и перемешивали 30 минут. Затем реакционную смесь отфильтровывали на стеклянном фильтре № 3 и промывали 5—7 раз водой (до 100 мл). К полученному активированному силикату в 12—15 мл 0,05 М фосфатного буфера рН 8,0 добавляли 15—18 мл ферментного препарата (по белку). Реакционную смесь перемешивали при 0°C в течение 2 часов. Ковалентно связанный фермент промывали на стеклянном фильтре № 3 один раз 0,5 М раствором NaCl для удаления нековалентно связанных белков и 5—7 раз водой до тех пор пока в фильтрате обнаруживалась глюкоамилаза или неактивные белки.

Иммобилизацию глюкоамилазы методом диазосочетания проводили по методике Витола [13]. К 2,0 г активированного силиката, суспендированного в 7,0—10 мл 0,05 М фосфатного буфера рН 8,0, добавляли 10—12 мг ферментного препарата (по белку) и перемешивали при комнатной температуре 30 мин или при +4°C в течение 1,5 часа. Ковалентно связанный фермент промывали, как и в случае глутарового альдегида.

Получение иммобилизованной глюкоамилазы карбодимидным способом проводили следующим образом. К 2,0 г аминопроизводного силиката в 3,0—5,0 мл воды, содержащего 10—15 мг (по белку) ферментного препарата глюкоамилазы, добавляли 0,5 г мето-*p*-толуолсульфонат 1-циклогексил-3-(2-морфинил-(4)-этил)-карбодимидна в 1 мл воды. Реакционную смесь перемешивали при температуре +4°C в течение 24—26 часов. Полученный нерастворимый фермент отделяли от продуктов реакции фильтрованием на стеклянном фильтре № 3 водой (4 раза), 0,5 М раствором NaCl (2 раза) и опять водой (3 раза) для полного удаления нековалентно связанных белков.

Все полученные нерастворимые глюкоамилазы хранились как в виде водной суспензии, так и в виде препаратов при +4°C. Во всех опытах использовали бидистиллированную воду.

Активность глюкоамилазы определяли по методу Дальквиста [7], белок считали по Лоури [9]. Для определения активности иммобилизованных глюкоамилаз брали навески препаратов от 20 до 50 мг и инкубировали с субстратом на специально сконструированном нами аппарате при постоянном круговом встряхивании.

Все опыты проводились в 5—7-кратной повторности.

Ранее нами была выделена в гомогенном состоянии глюкоамилаза мутантного штамма *Asp. awamory* и определен ее аминокислотный состав, молекулярный вес и N-концевая аминокислота — валин [1]. Дальнейшие исследования глюкоамилазы *Asp. niger* убедили нас в том, что ни аминокислотным составом, ни N-концевой аминокислотой, ни другими физико-химическими свойствами эти два фермента не отличаются. Поэтому в процессе работы для обоих препаратов ферментов применялись совершенно одинаковые условия.

По нашим данным [1], в глюкоамилазе содержится большое количество свободных карбоксильных остатков (72 остатка аспарагиновой кислоты и 51 остаток глютаминовой кислоты) и 7 остатков лизина. Исходя из этого, мы попытались посредством таких бифункциональных реагентов, как карбодимид (КДИ) и глутаровый альдегид, ковалентно присоединить глюкоамилазу к аминогруппам силикатов. Через КДИ карбоксильную группу фермента с аминогруппой силиката и посредством глутарового альдегида аминогруппу глюкоамилазы соединить с аминогруппой носителя.

Методом диазосочетания была предпринята попытка ковалентно присоединить глюкоамилазу через тирозиновые остатки (20 остатков тирозина на моль фермента). Для этой цели аминогруппы носителя активировались диазотированием по методике Витола [13] и затем сочетались с ферментом.

В табл. 1 приведены данные, полученные в результате иммобилизации глюкоамилазы на стекле и силихроме разными методами.

Таблица 1

Активность глюкоамилазы *Asp. niger* 475 и *Asp. awamory* (мутант), полученная в результате иммобилизации на стекле и силихроме

Способ присоединения фермента к носителю	Активность глюкоамилазы, ед/г силихрома		Активность глюкоамилазы, ед/г стекла	
	<i>Asp. niger</i> 475	<i>Asp. awamory</i> (мут.)	<i>Asp. niger</i> 475	<i>Asp. awamory</i> (мут.)
Карбодимидный	172	156	90	83
Глутаральдегидный	190	160	96	85
Метод диазосочетания	240	198	141	122

Как видно из таблицы, глюкоамилаза ковалентно присоединялась к аминосиликатам всеми испытанными нами методами, при этом активность обоих использованных нами препаратов глюкоамилаз на аминосилихроме была в два раза больше, чем на амнистекле. Исходя из этого, все дальнейшие опыты нами были проведены с глюкоамилазой, ковалентно присоединенной к силихрому. В то же время, несмотря на довольно высокую активность всеми тремя способами иммобилизованной глюкоамилазы, на силихроме все же наибольшей активностью отличались препараты, полученные методом диазосочетания.

В дальнейшем нами было изучено влияние pH на активность иммобилизованной глюкоамилазы (рис. 1). Поскольку все иммобилизованные формы глюкоамилазы имели практически одинаковый профиль влияния pH на активность, на рис. 1 приведены кривые иммобилизо-

ванной на силихроме методом диазосочетания и растворимой глюкоамилазы *Asp. niger* 475.

Из данных рисунка видно, что рН-оптимум у иммобилизованной глюкоамилазы сдвинут в нейтральную сторону (рН 6,0), а у растворимого фермента рН-оптимум равен 4,7. В то же время у нерастворимой формы глюкоамилазы значительно увеличивается диапазон рН-действия (от 2,0 до 8,0) по сравнению с растворимой формой.

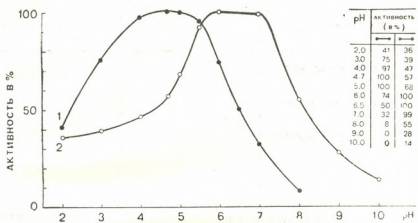


Рис. 1. Влияние рН инкубационной среды на активность растворимой (1) и нерастворимой (2) глюкоамилазы

Влияние температуры инкубационной среды на активность растворимой и нерастворимой глюкоамилазы показало, что нерастворимая форма фермента проявляет активность (40%) при температуре 80°C, в то время как активность растворимой глюкоамилазы при 80°C равна нулю. При этом у растворимой глюкоамилазы отмечается некоторое смещение температурного оптимума по сравнению с растворимой — от 65 до 60°C. Вместе с тем, было установлено, что нерастворимая форма глюкоамилазы практически не отличается термостабильными свойствами от растворимой.

Ранее нами было показано [2], что глюкоамилаза *Asp. awamory* практически без потерь ферментной активности выдерживает температуру 60°C при инкубации в течение 1 часа. По-видимому, естественными высокими термостабильными свойствами глюкоамилазы *Aspergillus* можно объяснить тот факт, что в иммобилизованном состоянии термостабильные свойства фермента не увеличиваются.

Далее мы рассчитали температурный коэффициент Q_{10} и на основании этого коэффициента энергию активации для нерастворимых форм и растворимой глюкоамилазы в пределах от 30 до 40°C (табл. 2).

Энергию активации рассчитывали по уравнению Аррениуса

$$EA = \frac{4.575 \cdot T_1 \cdot T_2}{T_2 - T_1} \cdot \lg \frac{K_2}{K_1}$$

Учитывая, что реакции проводились в одинаковых условиях, константы реакций K_1 и K_2 можно заменить их скоростями V_1 и V_2 .

Полученные нами ферменты при хранении, как в виде водной суспензии, так и в виде сухого порошка, в течение двух месяцев не теряли активности. Более чем пятидесятикратное использование нераство-

римой глюкоамилазы, когда в качестве субстрата применяли 1% растворимый крахмал, практически не изменяло активности нерастворимых ферментов.



Таблица 2

Величина Q_{10} и энергия активации для нерастворимых и растворимой глюкоамилаз, иммобилизованных на силихроме

Глюкоамилаза	$\frac{K_2}{K_1}$ (30—40°)С	Энергия активации
Иммобилизованная методом диазосочетания	1,32	4800
Иммобилизованная при помощи глутаральдегида	1,31	4700
Иммобилизованная при помощи КДИ	1,30	4600
Растворимая	1,34	5200

Таким образом в результате проведенной работы получены иммобилизованные формы глюкоамилазы на силихроме и стекле глутаральдегидным и карбодимидными способами и методом диазосочетания.

Наибольшей активностью из всех полученных нами нерастворимых форм ферментов выделялась глюкоамилаза *Asp. niger* 475, присоединенная к силихрому методом диазосочетания. Показано, что у нераст-

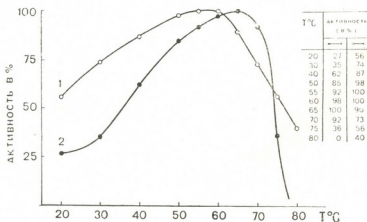


Рис. 2. Влияние температуры инкубационной среды на активность растворимой (1) и нерастворимой (2) глюкоамилазы

воримой глюкоамилазы повышена рН-стабильность и оптимум рН сдвинут от слабокислого в нейтральную сторону по сравнению с растворимым ферментом. Кроме того, нерастворимую форму глюкоамилазы выделяет повышенная термостабильность инкубационной среды.

ЛИТЕРАТУРА

1. Дурмишидзе С. В., Квеситадзе Г. И., Коконашвили Г. Н. ДАН СССР, 217, 2, 470, 1974.
2. Дурмишидзе С. В., Квеситадзе Г. И., Коконашвили Г. Н., Нучубидзе Н. Н. Сообщения АН ГССР, 69, 2, 461, 1973.
3. Менялова И. И., Нахапетян Л. А., Козлов Л. В., Антсгов В. К., Жданов С. Н., Каромальди Е. В. Тезисы докладов I Всесоюзного симпозиума по получению и применению иммобилизованных ферментов. Таллин, 1974, 37.
4. Патент США, 1974, 3783101.
5. Braun G., Selegny E., Avrameas S., Thomas D. Biochim. Biophys. Acta, 185, 260, 1969.
6. Grubhofer N., Schleith L. Z. physiol. Chem., 297, 108, 1954.
7. Dahlgvist A. Biochem. J., 109, 80, 1961.
8. Duxon J. E., Stolzenbach F. E., Berenson J. A., Kaplan N. O. Biochem. Biophys. Res. Commun., 52, 905, 1973.
9. Lowry O., Rosebrongh N., Farr A., Randall R. J. Biol. Chem., 193, 25, 1951.
10. Marsch D. R., Lee Y. Y., Tsao G. T. Biotechnol. Bioeng., 153, 483, 1973.
11. Robinson P. J., Dunnill P., Lilly M. D. Biochim. Biophys. Acta, 242, 659, 1971.
12. Flemming C., Cabert A., Wand H. Acta Biol. med. germ., 32, 135, 1974.
13. Weetall H. H. Science, 615, 166, 1969.

გლუკოამილაზის იმობილიზაცია სილიკატურ მატარებელზე

ზ. კვესიტაძე, ზ. თოხაძე, მ. დვალი, ტ. ბრეგვაძე, ტ. ფრაქინა

საქართველოს სსრ მეცნიერებათა აკადემიის მეცნარეთა ბიოქიმიის ინსტიტუტი, თბილისი რეზიუმე

გლუტარის ალდეჰიდის, კარბოდიმიდის და დიაზოშეუღლების მეთოდების საშუალებით მიღებული *Aspergillus niger* 475 და *Asp. awamory*-ს გლუკოამილაზების იმობილიზებული ფორმები მინის ბუთონებზე და სილოქროზე. შესწავლილია ამ ფერმენტის უხსნადი ფორმების თერმოსტაბილობა და მათზე pH-ის გავლენა. დადგენილია, რომ ფერმენტის უხსნადი ფორმები ხსნად ფორმებთან შედარებით უფრო მდგრადია სუსტ ტუტე არეში. გარდა ამისა დადგენილია, რომ უხსნადი ფერმენტის ოპტიმუმი გადაწეულია სუსტი მუყავე არიდან ნეიტრალურისაკენ (4,7-დან 6,0-მდე).

IMMOBILIZATION OF GLUCOAMILASE ON SILICON CARRIERS

G. I. KVESITADZE, Z. V. TOKHADZE, M. Sh. DVALI, Ts. R. BREGVADZE, T. J. FRAKINA

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

Summary

Glucoamilase from *Asp. niger* 475 and *Asp. awamory* was immobilized by glutaraldehyde, carbodiimide and diazo linkage methods and coupled to glass bulbs and silochrome. The thermal stability and pH-profile of the insoluble forms were studied. It was observed that the insoluble form of the enzyme is less susceptible to weak alkaline solution than the soluble one. It was also shown that pH-optimum for the insoluble enzyme is shifted to the neutral region (from pH—4.7 to pH 6.0).

УДК 577.1:547.965:547.233

БИОХИМИЯ

ИЗМЕНЕНИЕ УРОВНЯ ЦИКЛИЧЕСКОЙ АДЕНИЛОВОЙ КИСЛОТЫ В ГОЛОВНОМ МОЗГУ ПРИ АМИНОКИСЛОТНЫХ НАГРУЗКАХ

А. О. Чилингаров, Н. Н. Мелитаури, В. Н. Чикваидзе

Институт физиологии АН ГССР, Тбилиси

Поступила в редакцию 6.2.1975

В рацион крыс в течение двух месяцев вносили следующие аминокислоты: глутаминовую кислоту, метионин, кофакторы обмена, тирозин, триптофан. Определяли содержание 3', 5'-АМФ и активность аденилциклазы и фосфодиэстеразы в коре гемисфер и мозжечке головного мозга. 3', 5'-АМФ определяли по ранее разработанной методике. Активность ферментов определяли по изменению количества дансированных производных конечных продуктов реакции.

Смесь глутаминовой кислоты, метионина и кофакторов повышает уровень 3', 5'-АМФ в исследованных участках мозга, одновременно увеличивается активность ферментов. Тирозин не изменяет содержание 3', 5'-АМФ, однако активность аденилциклазы и фосфодиэстеразы падает. Триптофан уменьшает как активность ферментов, так и уровень циклической адениловой кислоты.

Установлена корреляция между уровнем 3', 5'-АМФ в головном мозгу и условнорефлекторной памятью животных. Активность ферментов не коррелирует с уровнем 3', 5'-АМФ.

Продолжительная нагрузка крыс малыми дозами аминокислот вызывает значительные сдвиги в региональном распределении свободных аминокислот и биогенных аминов в головном мозгу. Эти сдвиги имеют закономерный характер, в результате чего изменяется поведение и функциональная активность головного мозга животных [3].

В поведенческих актах моноаминам принадлежит важная роль [1, 5, 6, 8]. Их действие на активность клетки реализуется посредством циклической адениловой кислоты [2, 7, 9].

В связи с этим перед нами была поставлена задача выяснить влияние нагрузок свободными аминокислотами на содержание циклической адениловой кислоты и на активность ферментов, определяющих ее уровень в головном мозгу крыс.

МЕТОДИКА

Опыты ставились на растущих белых крысах линии Вистар. Изучали эффект нагрузки глутамата + метионина, тирозина и триптофана. Аминокислоты добавляли в обычный рацион по 125 мг/кг живого веса ежедневно. В опытах с глутаматом и метионином в смесь аминокислот вносили кофакторы обмена [3]. Нагрузку проводили в течение двух месяцев. Количественное определение циклической адениловой

кислоты (3', 5'-АМФ) проводили, используя ранее разработанную методику [4].

Подготовка образцов для хроматографического анализа. Крысу обезглавливали, быстро извлекали мозг. Исследуемый участок (20 мг) гомогенизировали в стеклянной пробирке тefлоновым пестиком в 0,25 мл 0,05 н. HCl. Затем добавляли 0,6 мл раствора дансил-хлорида в ацетоне (6 мг/мл) и 0,25 мл насыщенного раствора NaHCO₃. Смесь перемешивали и инкубировали 1,5 часа при 30°. После инкубации в пробирку наливали 3,0 мл ацетона и центрифугировали на холоде 20 мин при 16 000 g. Надосадочную жидкость сливали в фарфоровый тигель, а осадок еще раз промывали ацетоном и центрифугировали. Объединенный раствор выпаривали, сухой остаток растворяли в 0,05 мл воды и 0,05 мл ацетона и переносили в пробирку. После центрифугирования в течение 10 мин при 16 000 g получали пригодный для хроматографического анализа раствор. Циклическую адениловую кислоту определяли на хроматограмме одновременно со свободными аминокислотами [4].

Определение активности аденилциклазы. Активность аденилциклазы определяли по приросту 3', 5'-АМФ после инкубации гомогената мозга с АТФ. Мозг быстро извлекали из черепа, отсекали исследуемый участок (20 мг) и гомогенизировали в стеклянной пробирке несколькими оборотами тefлонового пестика в 0,2 мл инкубационной среды: 50 mM трис-HCl буфер, pH 8,14; 5 mM MgSO₄; 10 mM теофиллин. Пробирку ставили в ледяную воду на 15 мин, затем добавляли 0,1 мл раствора АТФ (2,5 mM) в вышеприведенном буфере. Смесь перемешивали и инкубировали 10 мин при 30°. Инкубацию прекращали добавлением 0,05 мл 0,5 н. HCl и помещением пробирки в ледяную воду. К смеси приливали 0,6 мл раствора дансил-хлорида (6 мг/мл) в ацетоне, 0,2 мл насыщенного раствора NaHCO₃ и инкубировали 1,5 г при 30°. После инкубации добавляли 3 мл ацетона и центрифугировали 20 мин при 16 000 g. Супернатант сливали в фарфоровый тигель, осадок промывали и вновь центрифугировали. После выпаривания сухой остаток растворяли в 0,05 мл воды и 0,05 мл ацетона, переносили в пробирку и центрифугировали 10 мин при 16 000 g. На пластинку наносили 4 мкл смеси. Активность аденилциклазы выражали в микрограммах образовавшейся 3', 5'-АМФ за 1 мин на 1 мг белка.

Определение активности фосфодиэстеразы. Активность фосфодиэстеразы определяли по количеству распавшейся 3', 5'-АМФ, введенной в качестве субстрата в инкубационную среду. Для сравнения такое же количество 3', 5'-АМФ вводили в параллельный образец с инaktivированным кислотой ферментом.

Мозговую ткань в количестве 20 мг гомогенизировали в 0,2 мл инкубационной среды: 50 mM трис-HCl буфер, pH 8,14; 5 mM MgSO₄. Гомогенат выдерживали 15 мин в ледяной воде, затем добавляли 0,1 мл раствора 3', 5'-АМФ (1,4 mM) в приведенном буфере, и смесь инкубировали 3 мин при 30°. Инкубацию прекращали добавлением 0,05 мл 0,5 н. HCl и перенесением пробирки в ледяную воду. Далее обрабатывали так же, как и образец аденилциклазы. Параллельный образец готовили следующим образом: 20 мг ткани гомогенизировали в смеси 0,2 мл инкубационной среды и 0,05 мл 0,5 н. HCl. После гомогенизации последующая обработка аналогична процедуре обработки основного образца.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

Раньше мы изучали влияние аминокислотных нагрузок на распределение фонда свободных аминокислот и биогенных аминов в разных

участках головного мозга крыс. Одновременно ставили опыты с выяснения изменений поведенческих актов животных [3].

Тирозин и триптофан были использованы как источник физиологически активных аминов — катехоламинов и серотонина; глутаминовая кислота — как метаболически активное соединение, участвующее в процессах энергетике и нервной медиации головного мозга, а метионин — как один из основных поставщиков метильных и тиоловых групп.

Результаты экспериментов показали, что при нагрузке тирозином в исследованных участках мозга крыс (кора, мозжечок) содержание 3', 5'-АМФ не подвергается существенным изменениям (табл. 1). Отмечается лишь некоторое статистически недостоверное уменьшение уровня нуклеотида. Активность аденилциклазы при нагрузке тирозином уменьшается более чем в 2 раза как в коре, так и в мозжечке (на 67,6 и 63,5% соответственно). Как видно из табл. 1, уровень 3', 5'-АМФ в головном мозгу не отличается существенно от контрольных величин, несмотря на то, что активность аденилциклазы и фосфодиэстеразы падает. Это, возможно, объясняется тем, что уменьшение активности аденилциклазы сопровождается еще более значительным уменьшением активности фосфодиэстеразы.

Значительные изменения уровня 3', 5'-АМФ имеют место при нагрузке триптофаном. В коре гемисфер ее содержание по сравнению с контрольным уровнем уменьшается почти в два раза, а в мозжечке — на 24%. В то же время снижается активность аденилциклазы и фосфодиэстеразы. Однако нам не удалось в этом случае обнаружить определенной корреляции между активностью ферментов и уровнем 3', 5'-АМФ.

В опытах с глутаминовой кислотой и метионином установлено увеличение уровня 3', 5'-АМФ в обоих исследованных участках мозга. Одновременно с этим наблюдалось значительное увеличение активности аденилциклазы и фосфодиэстеразы (табл. 2).

В серии лабиринтных опытов было выяснено, что тирозин усиливает двигательную активность и улучшает условнорефлекторную память животных. Эти явления протекают на фоне общего увеличения концентрации аминов в нервной ткани и изменения отношения фонда катехоламинов к серотонину. Изменяется также уровень некоторых аминокислот, в частности глутамата, аспартата, гамма-аминомасляной кислоты. Отношение суммы возбуждающих нервную ткань аминокислот (глутамата и аспартата) к сумме тормозных аминокислот (гамма-аминомасляной кислоты и глицина) возрастает.

Триптофан ухудшает условнорефлекторную память животных и подавляет их двигательную активность. И в данном случае эти явления — отражение тех изменений, которые происходят с аминокислотами и аминами в головном мозгу. В значительной степени возрастает величина отношения суммы катехоламинов к серотонину. Изменяется также соотношение возбуждающих и тормозящих аминокислот.

В опытах с глутаматом и метионином наблюдалось резкое улучшение условнорефлекторной памяти животных. Соответствующие изменения имели место с фондом аминокислот и аминов.

Таким образом, нагрузка животных аминокислотами приводит к существенным сдвигам фонда свободных аминокислот и биогенных аминов головного мозга. Вместе с этим изменяется и уровень 3', 5'-АМФ, а также активность ферментов, регулирующих ее содержание в мозгу. Эти изменения находят непосредственное выражение в поведенческих актах животных.

Таким образом, глутамат, метионин и кофакторы обмена улучшают функциональную активность головного мозга, и этот процесс



Содержание 3', 5'-АМФ (в мкг/г ткани), активность аденилаткилазы и фосфодиэстеразы (в мкг/1 мг белка 1 мин) в коре и мозжечке головного мозга крыс после 2-месячной нагрузки тирозином и триптофаном

Активность ферментов	Участки	Контроль	Триптофан	Изменение, %	Тирозин	Изменение, %
3', 5'-АМФ	Кора	0,72±0,1	0,38±0,1 P<0,001	-47,3	0,71±0,2 P<0,5	-1,4
	Мозжечок	0,87±0,3	0,66±0,1 P<0,001	-24,1	0,79±0,2 P<0,05	-9,2
Аденилаткилаза	Кора	0,071±0,007	0,023±0,002 P<0,001	-67,6	0,023±0,005 P<0,01	-67,6
	Мозжечок	0,063±0,005	0,039±0,009 P<0,05	-38,1	0,023±0,002 P<0,01	-63,5
Фосфодиэстераза	Кора	1,038±0,015	0,478±0,013 P<0,001	-54,0	0,157±0,010 P<0,001	-84,9
	Мозжечок	0,236±0,005	0,047±0,007 P<0,001	-80,1	0,015±0,002 P<0,001	-93,7

Таблица 2

Содержание 3', 5'-АМФ (мкг/г ткани), активность аденилаткилазы и фосфодиэстеразы (в мкг/1 мг белка 1 мин) в коре и мозжечке головного мозга крыс после 2-месячной нагрузки меланином, глутаминовой кислотой и кофакторами

Активность ферментов	Участки	Контроль	Опыт	Изменение, %	P<
3', 5'-АМФ	Кора	1,69±0,28	2,78±0,15	+ 64	0,01
	Мозжечок	2,09±0,2	2,12±0,23	+ 1	0,5
Аденилаткилаза	Кора	0,076±0,006	0,181±0,011	+138	0,001
	Мозжечок	0,089±0,008	0,198±0,016	+122	0,001
Фосфодиэстераза	Кора	1,62±0,12	3,67±0,61	+138	0,01
	Мозжечок	0,66±0,07	1,52±0,15	+130	0,001



сопровождается увеличением уровня 3', 5'-АМФ в коре мозга, но не в мозжечке. Однако увеличение 3', 5'-АМФ не коррелирует с изменением активности ферментов. Возможным объяснением этому может быть различная локализация синтезирующего и разрушающего нуклеотид ферментов.

Тирозин не вызывает сдвигов в содержании 3', 5'-АМФ, при этом не наблюдается и существенных изменений активности мозга.

Триптофан приводит к значительному снижению активности мозга, и это находит отражение в уменьшении уровня 3', 5'-АМФ. Однако, как и в случае глутамата с метионином, изменение 3', 5'-АМФ не коррелирует с активностью ферментов ее метаболизма.

ЛИТЕРАТУРА

1. Ильюченко Р. Ю. Фармакология поведения и памяти. «Наука». Новосибирск, 1972.
2. Кометиани П. А. О механизмах действия циклической адениловой кислоты. «Медицина». Тбилиси, 1974.
3. Чилингаров А. О., Ибрагимов И. И., Кометиани П. А. Укр. биох. ж., 44, 699—706, 1972.
4. Чилингаров А. О., Кометиани П. А. Вopr. мед. хим., 20, 31—37, 1974.
5. De la Torre J. C. Dynamics of Brain Monoamines. Plenum Press. N—Y., 1971.
6. Engel J. Neurochemistry and Behavior. Diss. Dept. Pharmac., Univ. Göteborg, 1972.
7. Robison G. A., Butcher R. W., Sutherland E. M., (Eds). Cyclic AMP. Pergamon Press. N—Y., 1971.
8. Seyler N., Demish L., Schneider H. Angew. Chem., 83, 53, 1971.
9. Sutherland E. M. Science, 177, 401, 1972.

ამინომჟავებით დატვირთვისას თავის ტვინში ადენილის მჟავის რაოდენობის ცვლილება

ა. ჩილინგაროვი, ნ. მელითაური, ვ. ჩიკვაძე
საქართველოს სსრ მეცნიერებათა აკადემიის ფიზიოლოგიის ინსტიტუტი, თბილისი

რ ე ზ ი უ მ ე

ორი თვის განმავლობაში თავებს დამატებით ვაძლევდით: 1. გლუტამინის მჟავას, მეთიონინის და კოფაქტორების ნარევის; 2. ტიროზინს; 3. ტრიპტოფანს. ჰემისფეროების ქერქში და ნათხეში შევისწავლეთ ციკლური ადენილის მჟავის რაოდენობა, ადენილციკლაზის და ფოსფოდიესტერაზის აქტივობა. 3',5'-ამფ-ის განსაზღვრას ვაწარმოებდით ადრე დამუშავებული მეთოდით — ციკლური ადენილის მჟავის ფლუორესცირებული დანსილ წარმოებულის თხელშრიანი ქრომატოგრაფიით.

გლუტამინის მჟავის, მეთიონინის და კოფაქტორების ნარევი თავის ტვინის შესწავლილ ნაწილებში იწვევს 3',5'-ამფ-ის რაოდენობის ზრდას, მატულობს აგრეთვე ადენილციკლაზის და ფოსფოდიესტერაზის აქტივობას.

ტიროზინი არ იწვევს ციკლური ადენილის მჟავის რაოდენობის შემცირებას, მაგრამ კლებულობს ორივე ფერმენტის აქტივობას.

ტრიპტოფანი ამცირებს როგორც ციკლური ადენილის მჟავის რაოდენობას, ისე ფერმენტების აქტივობას.

არსებობს კორელაცია ტვინში 3,5-ამფ-ის რაოდენობასა და ცხოველის პირობით რეფლექტორულ მესხიერებას შორის. ფერმენტების აქტივობა არ კორელირებს 3',5'-ამფ-ის რაოდენობასთან.

THE CHANGES PRODUCED BY AMINO ACIDS IN THE LEVEL OF
CYCLIC 3', 5'-AMP IN THE BRAIN



A. O. CHILINGAROV, N. N. MELITAURI, V. N. CHIKVAIDZE

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

S u m m a r y

In the course of two months the rats received with the diet amino acids: the mixture of glutamate, methionine and cofactors; tyrosine; tryptophane. The content of cyclic 3', 5'-AMP and the activity of adenylyl cyclase and phosphodiesterase in cerebral cortex and cerebellum were determined.

The mixture of glutamate, methionine and cofactors increased the content of cyclic nucleotide in all the investigated regions of the brain. The activity of both enzymes rose at the same time.

Tryptophane decreased both the cyclic 3', 5'-AMP content and enzymatic activity.

Tyrosine did not change the cyclic 3', 5'-AMP level in the brain, but the activity of adenylyl cyclase and phosphodiesterase fell.

There was a correlation between the cyclic 3', 5'-AMP level in the brain, and the conditioned memory of the animals. The activity of the enzymes did not correlate with the amount of cyclic nucleotide in the brain.

УДК 591.1.05+612.82

БИОХИМИЯ

МАТЕРИАЛЫ ПО ИДЕНТИФИКАЦИИ СОЕДИНЕНИЙ НЕРВНОЙ ТКАНИ, ЭКСТРАГИРУЕМЫХ ПОДКИСЛЕННЫМИ ЛИПОРАСТВОРИТЕЛЯМИ ПОСЛЕ УДАЛЕНИЯ ЛИПИДОВ

Л. А. Эдилашвили, Н. В. Гвалия

Институт физиологии АН ГССР, Тбилиси

Поступила в редакцию 5.2.1975

Изучался химический состав препарата, полученного из гомогената мозговой ткани, который был обработан по методу Фольча-Пи подкисленными липорастворителями. В препарате представлены соединения, которые участвуют в обмене аммиака, освобождающегося при окислительном дезаминировании аминокислот. Препарат в основном содержит протоплазматические белки с большим коэффициентом полярности. Установлено, что с обменом аммиака связаны соединения, которые представлены в водорастворимой части препарата, содержащей белки, фосфатидопептиды и фосфолипиды. Из них особый интерес представляют фосфолипиды, содержащие фосфоамидный азот. Приводится ряд фактов и соображений, что этот амидный азот связан с обменом аммиачного азота аминокислот.

Соединениями, растворимыми в подкисленных липорастворителях, мы заинтересовались потому, что они участвуют в освобождении и удалении аммиака. Установлено, что ими связывается аммиак, освобождающийся после окислительного дезаминирования аминокислот [2, 5, 11]. Было, вместе с тем, показано, что липорастворимые соединения являются источниками аммиака [1, 3] при судорогах, вызываемых камфорой.

Липорастворимые соединения, участвующие в обмене аммиака, из мозговой ткани выделялись двумя способами. При первом способе после удаления липидов из гомогената по Фольчу-Пи остаток обрабатывали ТХУ и полученный осадок экстрагировали смесью хлороформа и метанола (2:1). Из экстракта после нейтрализации выделяли осадок, представляющий смесь белков, фосфолипидов и фосфатидопептидов [2]. При втором способе гомогенат обрабатывали непосредственно ТХУ, после чего полученный осадок экстрагировали смесью хлороформа и метанола (2:1). Экстракт нейтрализовали щелочью, и выделенный осадок промывали для удаления следов липидов [1, 3]. В этом сообщении приводятся результаты исследования препарата, полученного первым способом.

МЕТОДИКА

Опыты инкубации гомогената головного мозга крыс проводили в аэробных условиях в течение одного часа при 37° в буфере Тоуера, рН 7,4. Готовили 20%-ный гомогенат, который разделяли на три части: одна часть не инкубировалась, остальные две части инкубировались,

вторая без добавок, в третью часть добавляли в конечной концентрации: АТФ — 2 мМ, инозинмонофосфат (ИМФ) — 3,3 мМ, пиридоксальфосфат (ПФ) — 0,5 мМ, аспартат — 7 мМ.

После инкубации, для удаления липидов, гомогенат обрабатывали смесью метанола и хлороформа (2:1) по Фольчу-Пи, после чего белки осаждали раствором 10% ТХУ. Осадок промывали один раз раствором 10% ТХУ. Осадок от ТХУ снова экстрагировали смесью хлороформа и метанола (2:1). Полученный кислый экстракт нейтрализовали. Выпавший осадок высушивали и изучали его химический состав. Анализ подвергался как суммарный препарат, так и отдельные его фракции — водорастворимая и водонерастворимая части. Содержание общего азота определяли по Кьельдалю. Суммарный аминокислотный азот аминокислот после кислотного гидролиза препарата определяли по Розену [15]. Кислотолабильный амидный азот после кислотного гидролиза препарата изучался по Силаковой [6], фосфор — по Фиске-Суббароу [8], инозитол — хроматографией на бумаге [13, 16]. Аминокислотный состав определяли после кислотного гидролиза тонкослойной хроматографией дансилдериватов [7]. Фракционный состав водорастворимых белков препарата изучался электрофоретически в 8% полиакриламидном геле (ПАГ). Гелевый буфер — трис-цитрат 0,076 М, рН 8,6; в электродных сосудах — боратный буфер 0,5 М, рН 8,3. Электрофорез проводили при 150 В, 1—1,5 мА на трубку методом, примененным Клейн [4]. Молекулярный вес каждой белковой фракции определялся по соотношениям скоростей электрического продвижения в гелях разной плотности [14].

ПОЛУЧЕННЫЕ ДАННЫЕ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

В первой серии опытов были проведены исследования содержания аминокислотного азота аминокислот в препарате (см. табл. 1).

Таблица 1

Содержание аминокислотного азота аминокислот в липорастворимом препарате из гомогената головного мозга крысы после удаления липидов по Фольчу-Пи. Суммарный аминокислотный азот аминокислот определяли кислотным гидролизом препарата. Азот в мг/100 г свежей ткани. Среднее из 5 определений

Условия опыта	Общий азот	Аминокислотный азот	% аминокислотного азота от общего
Контроль до инкубации	124,0 $m \pm 7,85$	75,5 $m \pm 6,01$	65,7
Контроль: инкубация без добавок	55,0 $m \pm 7,32$	43,6 $m \pm 9,08$	76,8
Инкубация + АТФ + ИМФ + ПФ + аспартат	66,4 $m \pm 7,22$	46,9 $m \pm 6,28$	70,7

Из данных табл. 1 выясняется, что в полученном нами препарате общий азот на 3/4 состоит из аминокислотного азота аминокислот. Это означает, что мы не имеем дело с белками или во всяком случае с полипептидами. Представляет интерес тот факт, что в процессе инкубации гомогената нервной ткани содержание соединений, растворимых в подкисленных липорастворителях, уменьшается. Это означает, что в процессе инкубации часть представленных в препарате соединений или распадается и не выделяется из липорастворителя после нейтрализации экстракта, или же в процессе инкубации в препарате происходят

такие изменения, которые снижают растворимость интересующих нас азотистых соединений в смеси хлороформа и метанола. Этот вопрос требует специального изучения.

В следующей серии опытов был изучен аминокислотный состав препарата и его изменения в процессе инкубации. Как видно из табл. 2, белки нашего препарата содержат большое количество полярных аминокислот.

Таблица 2

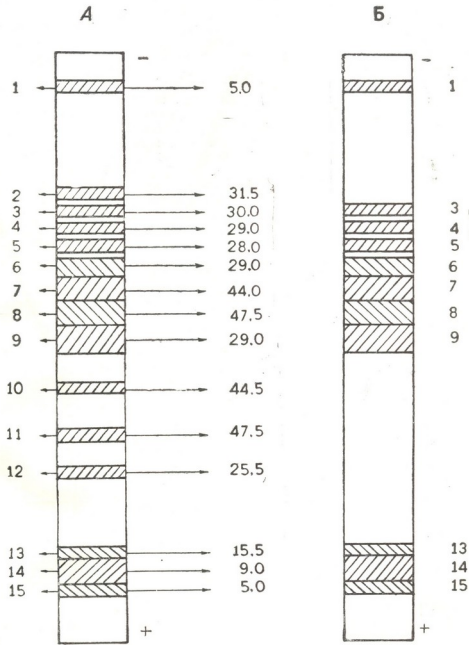
Аминокислотный состав препарата головного мозга крыс, растворенного в подкисленных липорастворителях после предварительного удаления липидов по Фольчу-Пи.

Аминокислоты	До инкубации	После инкубации без добавок	Инкубация + АТФ + ИМФ + ПФ + ас-парат
Аспарат	138,03	141,81	153,17
Глютамат	163,92	157,49	151,61
Лизин	49,54	55,18	48,05
Аргинин	73,63	77,71	75,18
Полярные	415,12	438,19	428,01
Серин	100,47	82,85	98,16
Треонин	85,09	91,31	82,52
Тирозин	6,31	6,69	4,58
Гистидин	19,79	18,23	21,78
Глицин	75,39	74,06	76,78
Промежуточные	287,05	273,16	283,83
Аланин	82,39	90,06	92,10
Валин+лейцин	54,17	47,04	51,93
Фенилаланин	25,17	29,07	23,01
Метионин	21,99	19,87	20,23
Цистин+цистеин	33,00	35,76	33,93
Изолейцин	41,65	42,56	34,74
Пролин	34,83	24,71	32,14
Неполярные	293,20	288,77	288,08
Всего полярных	+ 415,12 143,52 <u>558,64</u>	+ 438,19 136,58 <u>574,77</u>	+ 428,01 141,91 <u>569,92</u>
Всего неполярных	+ 293,20 143,52 436,72	+ 288,77 136,58 426,35	+ 288,08 141,91 429,99
Коэффициент полярности, %	56,1	57,5	57,0

Аминокислотный состав был рассчитан, исходя из 1000 суммарных остатков. Коэффициент полярности дан в процентах содержания полярных аминокислот от суммы всех аминокислотных остатков. При расчетах к сумме полярных и отдельно к сумме неполярных прибавлена полусумма промежуточных аминокислот [17].

Коэффициент полярности изучаемой нами фракции белков равен 57%. Это означает, что препарат представляет цитоплазматический белок с большим содержанием моноаминодикарбоновых кислот. Представленные нами данные о преимущественном содержании аспарагино-

вой и глютаминовой кислот в липорастворимом белке совпадают с данными Гайтонде [8, 9]. В большом количестве препарат содержит также серин и треонин (промежуточные моноаминокислоты) и аланин (неполярная аминокислота). Высоким содержанием аминокислот



Электрофореграмма водорастворимой части препарата липорастворимых соединений нервной ткани. В левой части (А) представлена электрофореграмма до инкубации, в правой (Б)—после инкубации. Цифры, приведенные в середине рисунка, обозначают молекулярные веса каждой фракции

вых кислот можно объяснить участие вышеназванной фракции белков в процессах устранения и освобождения аммиака, а серина — в процессах фосфорилирования.

Только пятая часть нашего препарата растворима в воде. Разделение в полнакриламидном геле методом дискового электрофореза растворимой части препарата до инкубации дает 15 фракций. После инкубации число фракций уменьшается до 11 (см. электрофореграмму).

Как выясняется, молекулярный вес отдельных фракций колеблется в широких пределах — от 5×10^3 до $47,5 \times 10^3$.

Водорастворимая часть для нас более интересна потому, что она содержит те соединения, которые активно участвуют в обмене аммиака, а именно в его устранении. В табл. 3 приведены данные изменения содержания кислотолабильного амидного азота в процессе инкубации гомогената мозговой ткани крыс в условиях окислительного деаминарования добавленной аспарагиновой кислоты.

Таблица 3

Изменения в распределении общего, кислотолабильного амидного азота и фосфора в препарате, в процессе инкубации в условиях окислительного деаминарования добавленного аспарата. Содержание в мг/100 г свежей ткани

Условия опыта	Общий азот	Кислотолабильный амидный азот	% амидного азота от общего	Общий фосфор	Молярное отношение общего азота к фосфору
Водорастворимая часть					
Контроль: инкубация без добавок	4,3 $m \pm 0,329$ (12)	0,70 $m \pm 0,014$ (10)	16,3	5,3 $m \pm 0,557$ (6)	1,8
Инкубация в присутствии АТФ, ИМФ, ПФ и аспарата	4,1 $m \pm 0,370$ (12)	0,90 $m \pm 0,026$ (10)	22,0	7,6 $m \pm 0,543$ (6)	1,2
Водонерастворимая часть					
Контроль: инкубация без добавок	56,1 $m \pm 5,84$ (12)	3,96 $m \pm 0,332$ (10)	7,1	1,5 $m \pm 0,261$ (6)	80,0
Инкубация в присутствии АТФ, ПФ, ИМФ и аспарата	53,1 $m \pm 6,122$ (12)	5,56 $m \pm 0,516$ (10)	10,5	1,9 $m \pm 0,308$ (6)	63,3

Примечание: в скобках число опытов

Из анализа данных табл. 3 выясняется, что вдвое больший прирост кислотолабильного амидного азота исследуемого препарата обнаруживается в растворимой фракции, по сравнению с нерастворимой. Обращает на себя внимание очень высокое содержание кислотолабильного амидного азота водорастворимой части препарата. Его содержание составляет 16% от общего азота и увеличивается до 22% при инкубации в присутствии аспарата и кофакторов его обмена.

Мандел, Ледиг [12] указывают, что кислотолабильный амидный азот представлен в белках не только в свободных карбоксильных

группах аминокислот, но и в остатках фосфорной кислоты. Фосфоамидные соединения в виде фосфопептидов выделены и идентифицированы в условиях, аналогичных нашим. Но в этих же условиях вместе с фосфопептидами в раствор переходят и фосфатидопептиды.

Имея в виду вышесказанное, необходимо было исследовать полученный нами препарат, растворимый в подкисленных липорастворителях, на содержание фосфора и инозитола. Результаты представлены в табл. 4, анализ данных которой приводит к заключению, что основная часть фосфора суммарного препарата представлена в виде соединений, растворимых в воде. Этими соединениями должны быть, в первую очередь, фосфопептиды и в меньшем количестве — фосфатидопептиды. Наличие фосфопептидов доказывается большим содержанием кислотолabileного амидного азота и связанных в полипептидной цепи аминокислот. На присутствие фосфатидопептидов указывает наличие в препарате инозитола.

Таблица 4

Содержание общего азота, фосфора и инозитола в водорастворимой и водонерастворимой фракциях препарата, растворимого в подкисленных липорастворителях. Отношения азота к фосфору, азота к инозитолу и фосфора к инозитолу рассчитаны в г/молях, количество в мг/100 г свежей ткани

Общий азот	Общий фосфор	Молярное отношение азота к фосфору	Инозитол	Молярное отношение азота к инозитолу	Молярное отношение фосфора к инозитолу
Водорастворимая часть					
8,4 $m \pm 0,632$ (7)	4,6 $m \pm 0,477$ (6)	4,0	5,2 $m \pm 0,158$ (5)	20,7	5,2
Водонерастворимая часть					
111,1 $m \pm 9,82$ (10)	2,1 $m \pm 0,204$ (6)	112,8	2,3 $m \pm 0,095$ (5)	607,7	5,4

Примечание: в скобках число опытов

Экспериментальный материал, полученный нами, указывает на то, что соединения, которые принимают участие в обмене аммиака, освобождающегося в процессе окислительного дезаминирования аминокислот, представлены в препарате, полученном обработкой предварительно обезжиренного гомогената мозговой ткани подкисленными липорастворителями. Препарат содержит белки, фосфатидопептиды и фосфопептиды. Особый интерес представляют фосфопептиды, в фосфатных остатках которого содержится кислотолabileный амидный азот. Последний, по-видимому, принимает участие в обмене аминного азота свободных аминокислот. Окончательный ответ может быть получен после идентификации фосфопептидов и изучения механизмов реакций переноса аминного азота аминокислот на фосфатный остаток фосфопептидов.

ЛИТЕРАТУРА

1. Воронова Н. В. Сообщения АН ГССР, 73, 469—472, 1974.
2. Гвалия Н. В., Эдилашвили Л. А. Сообщения АН ГССР, 74, 441—444, 1974.
3. Гоциридзе Е. Г., Гваберидзе М. Е. Сообщения АН ГССР, 64, 454—456, 1971.
4. Клейн Е. Э., Чоговадзе И. С. Сообщения АН ГССР, 75, 181—184, 1974.
5. Кометиани П. А. Биохимия 35, 394—403, 1970.
6. Силакова А. И., Труш Г. П., Яковлева А. Вопросы медицинской химии, 8, 538—540, 1962.
7. Чилингаров А. О., Кометиани П. А. Вопросы медицинской химии, 20, 31—37, 1974.
8. Fiske C., Subborow. J. Biol. Chem., 66, 10—13, 1925.
9. Gaitonde M. K. J. Neurochem., 80, 234—242, 1961.
10. Gaitonde M. K. Biochem. J., 80, 277—284, 1961.
11. Kometiani P. A., Klein N. E., Gvalia N. V., Gotsiridze E. G. J. Neurochem., 17, 1331—1337, 1970.
12. Mandel P., Ledig M. Biochem. Biophys. Res. Commun., 24, 275—279, 1966.
13. Norton W. T., Autilio L. A. J. Neurochem., 13, 213—222, 1966.
14. Parish. Anal. Biochem., 34, 436—450, 1970.
15. Rosen H. Arch. Biochem. Biophys., 67, 10—15, 1957.
16. Trevelian W. E., Procter D. P., Harrison J. Nature, 166, 444—450, 1950.
17. Vanderkooi G., Capaldi R. A. Ann. N. Y. Acad. Sci., 195, 135—142, 1972.

მასალაში, ლიპიდებმოცილებული ნარგული ქსოვილის ნაერთების იდენტიფიკაციის შესახებ შემსავებული ლიკოგამსწელებით

ლ. ელიაშვილი, ნ. ბვალა

საქართველოს სსრ მეცნიერებათა აკადემიის ფიზიოლოგიის ინსტიტუტი, თბილისი

რ ე ზ ი ე ე

შევისწავლეთ პრეპარატის ქიმიური შემადგენლობა, რომელიც მიღებული იყო წინასწარ ლიპიდებმოცილებული თავის ტვინის დამუშავებით ფოლჩ-პის მიხედვით. ნაჩვენებია, რომ პრეპარატი შეიცავს ამონიაკის ცელაში მონაწილე ნაერთებს და ძირითადად შედგება მაღალმოლარული პროტოპლაზმატური ცილებისაგან. დადგინდა, რომ ამონიაკის ცელაში მონაწილე ნაერთები წარმოდგენილია პრეპარატის წყალში ხსნად ნაწილში. ანალიზმა გვიჩვენა, რომ პრეპარატის წყალში ხსნადი ნაწილი ჰომოგენური არაა. იგი შეიცავს ცილებს, ფოსფატიდოპეპტიდებს და ფოსფოპეპტიდებს. ამათგან განსაკუთრებით ყურადსაღებია ფოსფოამიდური აზოტის შემცველი ფოსფოპეპტიდები. მოცემულია რიგი ფაქტები და მოსაზრებები, რომელთა მიხედვით ეს ამიდური აზოტი დაკავშირებულია ამინომჟავების ამინური აზოტის ცვლასთან.

SOME EVIDENCE ON IDENTIFICATION OF COMPOUNDS OF NERVOUS
TISSUE, EXTRACTED BY ACIDIFIED LIPID SOLVENTS AFTER LIPID
REMOVAL

L. A. EDILASHVILI, N. V. GVALIA

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

S u m m a r y

Study has been made on chemical composition of the preparation obtained from the brain homogenate extracted by acidified lipid solvents previously treated according to Folch-Pee. The preparation contains compounds participating in the exchange of ammonia released at oxidizing deamination of amino acids. It mainly contains protoplasmic proteins with a large coefficient of polarity. It has been demonstrated that the compounds involved in the water-soluble part of the preparation are associated with ammonia exchange. By analysis of the water-soluble part of the preparation, it appeared non-homogeneous, containing proteins, phosphatidopeptides and phosphopeptides. Phosphopeptides containing phosphamide nitrogen are of special interest. A number of facts and considerations are given that this amide nitrogen is associated with the exchange of amino nitrogen of amino acids.

УДК 576.858.9:575.24

ГЕНЕТИКА

КОМПЛЕМЕНТАЦИИ rII И am -МУТАНТОВ ФАГА ДДVI СО СТАНДАРТНЫМИ МАРКЕРАМИ ФАГА T4B

Т. Г. Чанишвили, Ж. С. Капанадзе, З. И. Алавидзе, М. А. Дарсавелидзе

Тбилисский НИИ вакцин и сывороток Минздрава СССР

Поступила в редакцию 10.12.1974

Представлен материал по изучению качественной и количественной комплементации 20 rII и 10 am -мутантов фага ДДVI со стандартными маркерами фага T4B. В результате исследований было установлено, что область rII , так же как и у фага T4B, состоит из двух функциональных единиц и имеет одинаковую с ним протяженность.

Из 10 взятых в опыт am -мутантов на генетической карте удалось определить расположение повреждений только у 4: 1) ДДVI am № 21 находится в гене 42, 2) ДДVI am № 59 — в гене 21, 3) ДДVI am № 85 — в гене 34, 4) ДДVI am № 16 — в гене 58. Экспериментальные исследования выявили наличие генетической аналогии между бактериальными вирусами T4B и ДДVI.

Количество генов, их локализация, различия в последовательности нуклеотидов могут быть причиной негомологичности генетического материала таких близкородственных вирусов, как T-четные и им подобные бактериофаги. Исследование качественных различий во внутренней структуре генов показывает, что с помощью генетического анализа удастся обнаружить различия и тогда, когда физико-химические и биологические методы не способны это выявить.

Так, Бензер [4], сравнивая тонкую генетическую структуру фагов T4B и T6 обнаружил лишь незначительные количественные различия между этими вирусами — некоторые «горячие» точки в генах rII у фага T6 «менее горячие», чем у фага T4B. Сравнительное изучение rII -области фагов T4B и T2, проведенное Ганди с соавторами [8], выявило наличие только одного цистрона у фага T2. Более детальное исследование r -мутантов этих же фагов, проведенное на большем материале [2], позволило установить, что у фага T2, так же как у фага T4B, rII -область состоит из двух цистронов, общая длина которых соответствует длине этой области у фага T4B.

Классификация мутантов по генам может быть осуществлена с помощью метода комплементации. Схема метода, разработанная Бензером [3] для составления тонкой генетической карты области rII фага T4B, в успехом применялась в генетических исследованиях целым рядом авторов [1, 2, 5—7].

Цель настоящей работы — изучение ряда условно-летальных rII и am -мутантов фага ДДVI методом комплементации с маркерами фага T4B.

В опытах были использованы фаги: ДДVI г⁺ и его мутанты — гII(20) и am(10), выделенные нами; T4B и его мутанты: гII-386, гII-EM66, гII-C33 (делеции в цистроне А); гII-638, гII-W8-33 гII-1299 (делеции в цистроне В), гII-1272, гII-1241, гII-j3, гII-PT1, гII-PB 242, гII-A105; am-мутанты, относящиеся к генам: 1,33, 39, 42, 43, 56, 47, 21, 34, 58.

Фаги T4B и его гII-и am-мутанты были получены из Института общей генетики АМН СССР. Бактериальные штаммы *E. coli* BB, B, K12(λ), K12(S), CR-63, CA-265, C-600 получены из ВНИИ генетики и селекции промышленных микроорганизмов; фагорезистентные штаммы B/4, 1188/VI — выделены нами.

Комплементацию осуществляли двумя методами: качественным и количественным. При первом на газон бактерии K12(λ), — 1×10^8 кл/мл наносили каплю смеси мутантов в титре $1,5 \times 10^7$ кл/мл. Наличие пятна лизиса после инкубации рассматривалось как комплементация. Методика второго заимствована из работы Жазыкова с соавт. [2]. Кроме того, нами был использован капельный метод Бензера — с применением мутантов-анализаторов фага T4B [4] для уточнения вопроса локализации выделенных гII-мутантов.

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЙ

В опыт по комплементации были взяты неревертирующие мутанты. В табл. I сведены данные качественной комплементации гII-мутантов фага ДДVI со стандартными маркерами фага T4B. Часть гII-мутантов (IA-8a) была индуцирована азотистой кислотой; остальные гII-мутанты, имеющие индекс ГА, — гидроксиламином.

Таблица 1

Качественная комплементация мутантов фага ДДVI с делециями фага T4

Испытуемые мутанты гII фага ДДVI	Тест-мутанты фага T4BrII				Цистрон
	386	638	c33	W8-33	
1a	+	—	+	—	B
2a	+	—	+	—	B
3a	+	—	+	—	B
4a	+	—	+	—	B
5a	+	—	+	—	B
6a	+	—	+	—	B
7a	+	—	+	—	B
8a	+	—	+	—	B
1ГА	—	+	—	+	A
2ГА	—	+	—	+	A
3ГА	+	—	+	—	B
4ГА	—	+	—	+	A
5ГА	+	—	+	—	B
6ГА	+	—	+	—	B
13ГА	+	—	+	—	B
14ГА	+	—	+	—	B
26ГА	+	—	+	—	B
27ГА	+	—	+	—	B
28ГА	+	—	+	—	B
29ГА	+	—	+	—	B

Примечание: + наличие, — отсутствие комплементации

Исходя из полученных нами данных, можно считать, что из 20 испытанных мутантов фага ДДVI только 3 относятся к цистрону А ДДVIгII-1ГА, ДДVIгII-2ГА, ДДVIгII-4ГА, так как они комплементарны в отношении делеций, находящихся в цистроне В и некомплементарны в отношении делеций, принадлежащих цистрону А. Ввиду того, что остальные мутанты не способны совместно с делециями фага Т4В, находящимися в цистроне В, размножаться на бактериях К, то можно сделать вывод, что эти мутации произошли в участках, относящихся к одной и той же функциональной единице — цистрону В. Для подтверждения полученных данных отобранные гII-мутанты фага ДДVI испытывались в опытах комплементации попарно.

Для дальнейшего доказательства правильности выявления двух групп комплементации были поставлены опыты количественной комплементации с гII-мутантами фага Т4В, прилежащими к границе предполагаемых цистронов (табл. 2).

Количественная комплементация

Таблица 2

Испытуемый фаг или смесь фагов	Урожай в расчете на одну инфицированную бактерию
гII-638 (Т4В—В-цистрон)	0
гII-EM66 (Т4В—А-цистрон)	0
гII-1ГА (ДДVI—А-цистрон)	0
гII-2ГА (ДДVI—А-цистрон)	0
гII-3ГА (ДДVI—В-цистрон)	0
гII-4ГА (ДДVI—А-цистрон)	0
гII-1ГА + гII-638	9
гII-1ГА + гII-EM66	0
гII-2ГА + гII-638	32
гII-2ГА + гII-EM66	0
гII-3ГА + гII-638	0
гII-3ГА + гII-EM66	93
гII-4ГА + гII-638	51
гII-7ГА + гII-EM66	0
гII-638 + гII-EM66	100

Данные опытов количественной комплементации согласуются с полученными ранее результатами. Кроме того можно заметить, что функция гII-области фага ДДVI компенсируется функцией цистронов фага Т4В.

Путем скрещивания выделенных гII-мутантов капельным методом Бензера [4] был уточнен вопрос расположения той или иной мутации в определенном сегменте области гII генома фага.

В опытах были использованы мутанты-анализаторы фага Т4В. В результате было установлено, что стерильные пятна на газоне К12(λ) образуются скрещиванием мутантов ДДVIгII-1ГА, ДДVIгII-2ГА с делециями гII-1241, гII-j3, гII-PT1, гII-PB242, гII-A105, гII-638. Перекрывает только делеция 1272.

При скрещивании ДДVI гII-4ГА с теми же анализаторами перекрывают делеции гII-1272, гII-1241. В остальных случаях перекрывают все делеции.

Исходя из вышеизложенного, можно заключить, что мутанты ДДVIгII-1ГА, ДДVIгII-2ГА располагаются в сегменте А1; мутант ДДVIгII-4ГА—в А2; остальные — в сегменте В.

Для проведения опытов по комплементации выделенных ам-мутантов фага ДДVI нами были выборочно взяты мутанты, которые не

ревертируются к дикому типу, или же мутанты; у которых спонтанный уровень реверсий на непермиссивном штамме был низкий.

Изучение качественной комплементации ам-мутантов между собой показало, что при попарных испытаниях они не комплементируются и, следовательно, должны затрагивать различную функцию фагового генома.

Для дальнейшего доказательства правильности предположения с целью сокращения объема работы были поставлены две серии опытов по комплементации со стандартными маркерами фага Т4В: 1) первоначально выявлялись некомплементирующие мутанты методом качественной комплементации на чашках со смешанным бактериальным газопом (спот-тест); 2) окончательный вывод о принадлежности ам-мутантов к одному и тому же (или тесно сцепленным) мутантным генам делался на основании результатов количественной комплементации.

Таблица 3
Качественная комплементация ам-мутантов фага ДДVI со стандартными маркерами фага Т4В

Испытуемые мутанты ДДVI ам	Стандартные маркеры фага Т4В					
	ам 90 ген 21	ам 135 ген 58	В-255 ген 10	ам 51 ген 2	ам 93 ген 47	В-225 ген 34
12	+	+	+	+	+	+
4	+	+	+	+	+	+
8	+	+	+	+	+	+
32	+	+	+	+	+	+
3	+	+	+	+	+	+
14	+	+	+	+	+	+
21	+	+	+	+	—	+
59	—	+	+	+	+	+
84	+	+	+	+	+	—
16	+	—	+	+	+	+

Примечание: + наличие, — отсутствие комплементации

Как видно из табл. 3, опыты по качественной комплементации 10 ам-мутантов фага ДДVI со стандартными маркерами фага Т4В

Таблица 4
Количественная комплементация ам-мутантов фага ДДVI со стандартными маркерами фага Т4В

Испытуемый фаг и смесь фагов	Урожай на непермиссивном штамме в расчете на одну инфицированную бактерию
ген 21 ам 90	—
ген 58 ам 135	—
ген 47 ам 93	—
ген 34 В - 25	—
ген 21 × ДДVI ам 32	59
ген 21 × ДДVI ам 59	—
ген 58 × ДДVI ам 84	47
ген 58 × ДДVI ам 16	—
ген 47 × ДДVI ам 14	116
ген 47 × ДДVI ам 21	—
ген 34 × ДДVI ам 12	82
ген 34 × ДДVI ам 84	—

(ген 21 ам 90, ген 58 ам 135, ген 10В-255, ген 2 ам 51, ген 47 ам 33, ген 34В-25) показали, что только 4 из них не могут обеспечивать репродукцию при смешанном заражении клеток хозяина. Так, например, ДДVI ам 21 в гене 47, ДДVI ам 59 в гене 21, ДДVI ам 84 в гене 34 и ДДVI ам 16 в гене 58.

Полученные данные позволяют заключить, что у 10 испытуемых мутантов повреждения в генах расположены в разных участках генома фага ДДVI, из которых определить точные расположения удалось только у 4 мутантов. Результаты были подтверждены количественной комплементацией (табл. 4), где средняя урожайность у смешанно инфицированных бактерий колебалась от 59 до 116 частиц на одну клетку.

ОБСУЖДЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ

Изучение 20 выделенных гII-мутантов фага ДДVI, проявляющих такие же генетические свойства, как и Т4В, методом качественной комплементации с делениями фага Т4В дало основание разбить последние на две группы: в первую вошло 3 мутанта (ДДVI гII-1ГА, ДДVI гII-2ГА, ДДVIгII-4ГА), во вторую — 17.

Для мутантов первой группы характерна комплементация с делециями, повреждения которых локализовались в цистроне В; для мутантов второй группы — в цистроне А. Парные испытания этих мутантов подтвердили полученные результаты. Ни один из мутантов, попавших по данным комплементации в тот или иной цистрон, не выходил за пределы своей группы комплементации. Следовательно, область гII фага ДДVI состоит из таких же функционально активных единиц (цистронов А и В), что и у фагов Т2, Т4В и Т6.

В опытах количественной комплементации средний урожай фагов на одну инфицированную клетку колеблется от 29 до 100, что является доказательством компенсации функций гII цистронов фага ДДVI функцией цистронов фага Т4В.

С помощью 7 мутантов-анализаторов капельным методом Бензера [4] был уточнен вопрос соответствия расположения 8 мутаций фага ДДVI к отдельным сегментам гII-области фага Т4В.

Оказалось, что мутанты ДДVIгII-1ГА, 2ГА относятся к сегменту А1, ДДVIгII-4ГА — А2, что же касается остальных, то все они находятся в сегменте В, точное расположение которых можно будет определить только в опытах рекомбинации.

Проведенные исследования позволяют предположить, что протяженность области гII у фага ДДVI имеет ту же длину, что и у Т-четных фагов.

Качественная и количественная комплементации 10 ам-мутантов фага ДДVI со стандартными анализаторами фага Т4В показали, что только некоторые могут обеспечивать нормальную репродукцию при смешанном заражении непермиссивных клеток.

Полученные данные позволяют заключить, что у всех 10 испытуемых мутантов повреждения в генах расположены в разных участках хромосомы фага ДДVI и затрагивают различные функции этого генома, из которых определить точное расположение удалось только у 4 мутантов: 1) ДДVI ам 21 находится в гене 47; 2) ДДVI ам 59 — в гене 21; 3) ДДVI ам 84 — в гене 34; 4) ДДVI ам 16 — в гене 58.

Сравнительный анализ амбер-мутантов фагов ДДVI и Т4В показал, что они приводят к одинаковому фенотипическому проявлению; для обоих фагов непермиссивным штаммом является *E. coli* В, а пер-



მისივნი შტამმაი — *E. coli* CR-63 (Su^{+1}), *E. coli* CA-265 (Su^{+2}) და *E. coli* C-600 (Su^{+3}), ნა კორთა ეფექტივნიტა პოსეა მუტანტოვ დღვი და T4B რავნა ედინიცი. პოეტოკი კომპლენტაციონნი სპოსობნიტა მუდუ მუტანტაი ფაგა დღვი მობე ბიტი პრინია ჯა დოკაზატილტოვო ვაიზმოდეივია გენნი პროდუქტოვ ნი ციტოპლაზმა, ვ რეზულტატიე ჩო ნა ნეპერმისივნი შტამმაი პრიალტატი პიატნი ლიზისა (ვ ოპიტიე კაჩესთენნი კომპლენტაციი) ილი ნაბლუდატა რეპროდუქცია ობოიხ მუტანტოვ (ვ ოპიტიე კოლიჩესთენნი კომპლენტაციი), კაკ ნი დღია ფაგა T4B.

სუმირუა ექსპერიმენტალნიე დანიე, მობი უსანოვნიტი, ჩო ფაგა დღვი და T4B ივლიანტი გენეტიკესი ბლიზკოროდესთენნიე.

ЛИТЕРАТУРА

1. Алиханян С. И., Майсурян А. Н., Ломовская Н. Д. Генетика, 2, 1967.
2. Жазыков И., Крылов В. П., Алиханян С. И. Генетика, VI, 8, 1970.
3. Benzer S. Proc. Nat. Acad. Sci. USA., 41, 344, 1955.
4. Benzer S. Proc. Nat. Acad. Sci. USA, 47, 403, 1961.
5. Brenner S., Stretton O. W., Kaplan S. Nature, 205, 994, 1965.
6. Edgar R. S., Dienhardt G. H., Epstein R. H. Genetics, 49, 4, 636, 1964.
7. Epstein R. H., Bolle A., Steinberg C. M., Kellenberger E. Boy de la Tour. E. Chevalley R., Edgar R. S., Susman M., Denhardt G. H., Lielausis A. Cold Spring Harbor Symposia Quant. Biol., 28, 375, 1963.
8. Gandhi N. R., Mehta R. J., Modi V. V. Experientia, 24, 279, 1968.

DDVI ფაგის rII და am მუტანტების კომპლემენტაცია T4B ფაგის სტანდარტულ მარკერებთან

თ. ზანოვილი, შ. კაპანაძე, ზ. ალავეში, მ. ღარსაველიძე

საკავშირო ჯანდაცვის სამინისტროს თბილისის ვაქცინებისა და შრატების სამეცნიერო-კვლევითი ინსტიტუტი

რეზიუმე

ნაშრომში წარმოდგენილია T4B ფაგის სტანდარტულ მარკერებთან DDVI ფაგის 20 rII და 10 am მუტანტის რაოდენობრივი და თვისობრივი კომპლემენტაციის შედეგები.

კვლევის შედეგად დადგენილ იქნა, რომ DDVI და T4B ფაგების rII უბანს აქვს ერთნაირი სიგრძე და შედეგა 2 ფუნქციონალური ერთეულისაგან.

საკვლევად აღებული 10 am მუტანტიდან გენეტიკურ რუქაზე მხოლოდ 4-სთვის იქნა შესაძლებელი ზუსტი მდებარეობის განსაზღვრა. 1) DDVI am მუტანტი 21 იმყოფება 47 გენის ფარგლებში, 2) DDVI am მუტანტი 59 იმყოფება 21 გენის ფარგლებში, 3) DDVI am მუტანტი 45 იმყოფება 34 გენის ფარგლებში, 4) DDVI am მუტანტი 16 იმყოფება 58 გენის ფარგლებში.

ექსპერიმენტულმა გამოკვლევებმა გამოავლინეს გენეტიკური ანალოგიის არსებობა ამ ორ DDVI და T4B ბაქტერიულ ვირუსს შორის.

COMPLEMENTATIONS OF *rII* AND *am* MUTANTS OF PHAGE DDVI
WITH STANDARD MARKERS OF PHAGE T4B



T. G. CHANISHVILI, J. S. KAPANADZE, Z. I. ALAVIDZE, M. A. DARSVELIDZE

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

S u m m a r y

Data of the study of 20 *rII* and 10 *am* mutants of phage DDVI by the method of quantity and quality complementation with standard markers of phage T4B are presented.

The results of the investigation show that *rII* region of phage DDVI has an extension and consists of two functionally active units (cistrons A and B) as well as of T2, T4B and T6 phages.

From 10 *am* mutants which were involved in the experiment it was possible to determine the exact distribution only in 4 mutants: 1) *am* mutants 21 of phage DDVI was in gene 47; 2) *am* mutants 59 of phage DDVI was in gene 21; 3) *am* mutants 84 of phage DDVI was in gene 34; 4) *am* mutants 16 of phage DDVI was in gene 58; the rest were scattered in the chromosome and affected different functions.

The experiments revealed the existence of the genetic analogy between these bacterial viruses.

УДК 616—001—26

РАДИОБИОЛОГИЯ

ГЕМОДИНАМИЧЕСКИЕ СДВИГИ ПРИ МОЛНИЕНОСНОЙ ЛУЧЕВОЙ БОЛЕЗНИ У КРОЛИКОВ

К. Ш. Надарейшвили, Н. Б. Шарашенидзе, М. М. Джанджгава,
О. И. Санеблидзе, М. Н. Хурция

Институт физиологии АН ГССР, Тбилиси

Поступила в редакцию 28.1.1975

Основные показатели кардиогемодинамики кроликов изучались в процессе непрерывного тотального и локального облучения головы или остальной части тела вплоть до гибели животных «под лучом». Исследования проводились как при естественной (ЕД), так и искусственной (ИД) легочной вентиляции. Первичная физиологическая информация, включающая до 15 различных показателей гемодинамики и фазовой структуры сердечного цикла, получалась полуавтоматически на перфолентах и обрабатывалась на ЭВМ М-220 при помощи комплексной программы «Кардиодинамика».

Обнаружено, что в течение первых 40 минут облучения кроликов при мощностях дозы 120—160 и 350—400 рад/мин развивается гипотензия, особенно резко выраженная при ЕД. Эти сдвиги сопровождаются резким увеличением минутного объема крови (МОК) и показателей тканевой перфузии, а признаки гипоксического состояния отсутствуют. В интервале 40—60 мин АД спонтанно возрастает и лишь после этого начинается вторая фаза — понижение АД. В последнем случае, несмотря на высокий уровень тканевой перегрузки, проявляются признаки перфузионной, а затем миокардиальной недостаточности, характерные для шока любой другой этиологии. Обсуждаются вопросы патогенеза радиационного шока и роли расстройств общей гемодинамики в развитии необратимых состояний при воздействии больших доз радиации.

Начиная с основополагающих для радиобиологии работ И. Р. Тархан-Моурави [17], вопросам действия радиации на сердечно-сосудистую систему и регуляторные механизмы гемодинамики было посвящено большое количество работ [3, 5, 12]. Во всех них исследованиями охватывались различные периоды после облучения, и лишь узкий круг специалистов занимался изучением наиболее ранних изменений, касающихся, главным образом, влияния облучения на артериальное давление (АД) непосредственно в процессе облучения [4, 11, 12, 22, 23]. Основные показатели общей гемодинамики в этих случаях до сих пор еще практически не изучены, хотя имеется достаточно сведений, относящихся к пострadiационному периоду [1, 10, 16]. Однако эти данные не позволяют судить о механизмах лучевых расстройств гемодинамики, поскольку не выяснено, какие звенья сложной системы регуляции гемодинамики являются пусковыми, при каких дозах, когда и какими сдвигами начинается срыв приспособительных механизмов и развивается патологический процесс.

Для решения этих вопросов удачной моделью может служить исследование гемодинамических сдвигов «под лучом» в процессе ионизирующего воздействия больших доз радиации, т. е. в процессе развития так называемой молниеносной лучевой болезни. В этих условиях восстановительные процессы выражены слабо и удается дифференцировать приспособительные реакции от патологических.

МЕТОДИКА ИССЛЕДОВАНИЙ

Опыты проводились на кроликах породы шиншилла весом 2,5—3 кг. Минутный объем крови (МОК) определяли методом терморазведения и по интегральной реограмме тела [13, 19]. В качестве индикационного раствора применялся полиглюкин, температура которого равнялась 27—28°, с добавлением 100 МЕ гепарина на 1 мл, а при работе в условиях искусственной легочной вентиляции добавляли еще и 10—15 мг тубарина при помощи аортального катетера, МОК рассчитывали методом переднего треугольника. Одновременно производилась регистрация ЭКГ, ФКГ, АД и дыхания. Кроме самостоятельного качественного и количественного анализа указанных физиологических показателей, проводились комплексная и корреляционная их оценка методом фазового анализа [9]. Записи производились на 8-канальном миннографе фирмы Элема-Шонадер, а промеры показателей и их регистрация на перфоленте (ПЛ) — полуавтоматически. Искусственное дыхание осуществлялось при помощи аппарата АИД-4. Первичная информация с ПЛ прямо вводилась в ЭВМ М-220 и обрабатывалась при помощи комплексной программы «Кардиодинамика» [2]. Результаты обработки отдельных опытов выводились на печать в виде поэтапных таблиц и запоминались на магнитной ленте ЭВМ (машинный архив). В дальнейшем результаты однотипных наблюдений программным же путем группировались, обобщались и печатались в виде сводных таблиц, таблиц сравнения и коррелограмм. Рассчитывались также должные величины длительностей отдельных фаз сердечного цикла при помощи стандартной программы регрессионного анализа.

Всего проведено 4 серии опытов в условиях искусственного дыхания: 1 — контроль «мнимое облучение» (28 опытов); 2 — тотальное облучение (15 опытов); 3 — облучение головы и экранирование тела (16 опытов); 4 — облучение тела за исключением головы (14 опытов) и одна серия комплексных исследований в условиях естественного дыхания и тотального облучения (12 опытов). Облучение проводили на спаренных установках типа РУМ-11 при условиях: 200 кВ, 20 мА, фильтр 0,5 мм Cu + 1 мм Al. Мощность дозы при облучении в условиях искусственного дыхания составляла 120—160 рад/мин, а при естественном дыхании — 350—400 рад/мин.

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЙ

Первоначально опыты проводились в условиях естественного дыхания (ЕД). Как и следовало ожидать, выявилось, что лучевым гемодинамическим сдвигам сопутствуют резкие, главным образом, компенсаторные изменения дыхания. Эти реакции были настолько изменчивыми, что часто невозможно было выяснить, какому механизму — нарушению дыхания или радиационному повреждению сердечно-сосудистых регуляторных механизмов — принадлежит ведущая роль. В связи с этим было сделано заключение о том, что выявление конкретных механизмов радиационных расстройств гемодинамики возможно лишь при сравнении результатов, полученных и в условиях стабильного искусственного дыхания (ИД). Однако установление оптимальных условий



ИД представляет довольно сложную задачу, т. к. и без какого-либо дополнительного воздействия в результате длительной искусственной вентиляции легких происходят заметные, в том числе патологические, сдвиги гемодинамики. Функциональное состояние всей сердечно-сосудистой системы довольно резко меняется при малейших изменениях параметров ИД, поэтому подбор условий ИД мы производили индивидуально, добиваясь в каждом случае максимального приближения гемодинамических показателей, в частности АД, к исходным значениям в условиях ЕД.

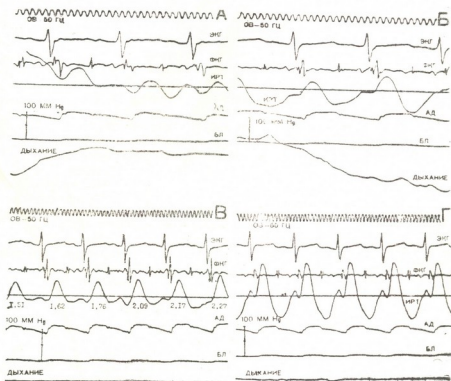


Рис. 1. Фрагменты записей поликардиограмм в различных условиях эксперимента. А—в условиях ЕД; Б—в условиях ИД; В—сразу после выключения ИД; Г—на 5—7-й секунде после выключения ИД. Объяснение в тексте

Для иллюстрации сказанного на рис. 1 представлены фрагменты записей поликардиограмм и гемодинамических показателей в различных условиях эксперимента. Из рис. 1 видно, что сразу после переключения животного на ИД (Б), несмотря на тщательный подбор его условий по глубине и частоте дыхания, АД несколько выше, чем в контроле (А). Увеличивается также систолический объем (СО), о чем можно судить и по увеличению амплитуды ИРТ, не говоря о результате определения МОК методом термодилуции. Расчеты показали, что в это время заметно уменьшается общее периферическое сопротивление сосудов (ОПС).

Достаточно на 1—2 сек выключить искусственное дыхание, как мгновенно меняется систолический объем, что является компенсаторной реакцией, направленной на поддержание артериального давления в условиях резкого снижения ОПС. Последнее обусловлено развитием нервно-гуморальных сдвигов в ответ на развитие гипоксии

(рис. 1, В). Здесь без всяких измерений заметно увеличение амплитуды интегральной реограммы тела с каждой последующей системой. Если же выключить ИД на более длительный срок, то уже на 5—7 секунде (Г) амплитуда интегральной реограммы тела увеличивается более чем в 4 раза по сравнению с исходной (А).

Эти данные не только подтверждают важное значение тщательного подбора параметров искусственного дыхания, но и указывают на высокую чувствительность метода интегральной реографии [13, 19].

Результаты исследований гемодинамических сдвигов, вызванных облучением различных частей тела, были опубликованы в виде отдельных фрагментов [14, 15, 20, 21]. Однако лишь обобщенный анализ этих данных, представленный в настоящей работе, может позволить в какой-то мере уяснить роль отдельных патогенетических звеньев.

На рис. 2 представлена динамика изученных нами основных показателей гемодинамики, в частности частоты сердцебиения (ЧС), систолического объема (СО), артериального давления (АД), минутного объема крови (МОК) и общего периферического сопротивления (ОПС) как в контрольных опытах, так и в различных условиях облучения. На ординате дана шкала масштабов в соответствующих единицах, а на абсциссе — время облучения в минутах. Кривая 1 представляет собой динамику средних данных контрольных опытов, 2 — тотального облучения, 3 — облучения только головы, а 4 — только тела при экранировании головы. На соответствующих этапах наблюдения нанесены 95%-ные доверительные интервалы.

Из рис. 2 видно, что в контрольных опытах (без всякого воздействия) имеет место достоверное развитие брадикардии и отчетливое понижение артериального давления, тогда как изменения систолического и минутного объемов крови, а также общего периферического сопротивления незначительны. Это дает возможность производить сравнение средних данных, полученных у контрольных и облучаемых животных на любом этапе наблюдения «под лучем».

Известно [1, 4, 11, 12], что при воздействии даже относительно малых доз радиации развивается гипотензия. Некоторые авторы связывают это с развитием радиационного шока. Результаты наших исследований, представленные на рис. 2, позволяют судить, в какой мере это мнение соответствует действительности и какие сдвиги дают право говорить о развитии шокового состояния в процессе облучения.

В течение первых 40 минут облучения во всех трех сериях опытов наблюдается развитие начальной гипотензии. При облучении головы гипотензия менее выражена, хотя к 40-й минуте при сравнении с контролем разница статистически достоверна.

Начальная гипотензия развивается на фоне резкого понижения ОПС у кроликов всех трех серий опытов. Это сопровождается резким увеличением СО и МОК и развитием тахикардии, хотя при облучении только головы такие же сдвиги происходят на фоне брадикардии. Надо отметить, что при облучении головы гемодинамические изменения значительно отличаются от аналогичных, полученных при общем облучении и облучении только тела. Начальное понижение артериального давления, так же как уменьшение общего периферического сопротивления, менее выражено. Незначительно увеличивается СО и МОК, хотя эти оба показателя статистически достоверно отличаются от контрольных данных.

С 40-й минуты воздействия начинается спонтанное повышение артериального давления у животных всех трех серий опытов с облучением, но при воздействии только на голову животного повышение давления выражено значительно резче, а главное — возрастает ОПС. Это указы-

ваит на то, что в данном случае начальная гипотензия носит компенсаторный характер и должна быть обусловлена увеличенной перфузионной потребностью головного мозга. По всей вероятности, к концу первого часа облучения головы авторегуляторные сосудистые меха-

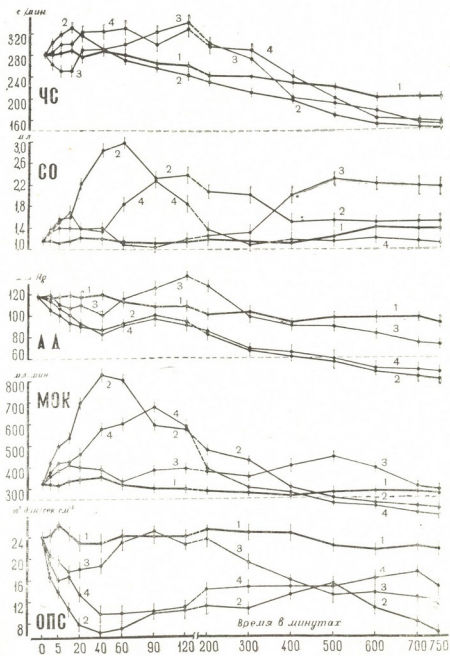


Рис. 2. Изменения основных показателей гемодинамики в контрольных опытах (1), при тотальном облучении (2), облучения только головы (3) и только тела (4) при экранировании головы. ЧС—частота сердцебиений в минуту; СО—систолический объем (мл); АД—максимальное артериальное давление (мм Hg); МОК—минутный объем крови (мл/мин); ОПС—общее периферическое сопротивление сосудов (10^3 дин/сек·см⁻⁵)

низмы мозга не удовлетворяют возросшим потребностям, и включается так называемый общий механизм централизации кровообращения.

Исходя из изложенного, можно заключить, что гипотензию, развившуюся в течение первых двух часов облучения, нельзя причислить к шоку. Достаточно сказать, что адаптационные сдвиги производят компенсацию гипотензии и перфузионной недостаточности за счет тахикардии и увеличения МОК. Это обеспечивает значительный рост объема перфузии тканей и органов, т. е. систолического и сердечного индексов, увеличивая доставку кислорода в облученные ткани. Если за основу принять перфузионную потребность до облучения, то тогда, при любой локализации облучения, в течение первых 2-х часов этот показатель более чем в 3 раза должен превысить исходный уровень, и нет никаких оснований говорить о перфузионной недостаточности, в смысле объема доставляемой крови, без учета возросшей потребности в O_2 . Как известно, перфузионная недостаточность является основным и ведущим механизмом в развитии шокового состояния. Представленные на рис. 2 факты указывают на то, что на данном этапе усиление метаболической активности, вызванное облучением, увеличивает перфузионную потребность. Однако, если бы компенсаторные механизмы не были бы достаточными, то во всех трех сериях опытов с облучением не наблюдалось бы спонтанного повышения артериального давления. Через 2 часа после начала облучения в этих же опытах отмечается постепенное снижение компенсаторных сдвигов. Этот эффект менее выражен при облучении головы. Об этом мы можем судить хотя бы на основании того, что в этом случае до 10-го часа облучения уровень АД статистически достоверно не отличается от контрольных показателей. Более того, именно на этом втором этапе снижения артериального давления отмечается повышение СО и МОК в опытах этой серии, что является бесспорным доказательством сохранения определенной компенсаторной способности.

На 10—12-ом часах облучения, т. е. когда суммарная доза достигает 40—50 крад, уровень артериального давления, выраженная брадикардия, соотношение СО и МОК, ОПС и другие изученные нами показатели характерны для шока любой другой этиологии. Если к этим фактам добавить выявленный нами на этом этапе фазовый синдром миокардиальной недостаточности [6, 14, 21], то становится ясным, что на данном этапе облучения у животных всех трех серий опытов имеются кардиогемодинамические сдвиги, характерные для шока.

Согласно современным представлениям [18], шок может быть кардиогенным и некардиогенным. Естественно, возникает вопрос — к какому из них принадлежит радиационный шок? Согласно нашим данным, при облучении головы, когда миокард не подвергается прямому воздействию радиации, сердце сохраняет определенную компенсаторную способность, а давление крови не падает так резко, как при общем облучении и облучении тела. Развитие фазового синдрома сердечной недостаточности происходит только при общем облучении в условиях естественного дыхания, и даже в этом случае первичные кардиогенные сдвиги не представляют собой ведущего механизма [6—8]. У животных всех трех серий, проведенных в условиях искусственного дыхания, ОПС намного ниже по сравнению с таковым контрольных опытов. Это указывает на то, что при облучении только головы, растет перфузионная потребность, и на этом фоне кровоснабжение тканей даже на уровне контрольных опытов будет недостаточным. Следует подчеркнуть, что такие явления редки или совсем не имеют места при травматическом шоке.



Радиационный шок в этом отношении значительно отличается. Другими словами, радиационный шок обусловлен незначительным уменьшением объема тканевой перфузии, не достаточным для того, чтобы вызвать шок без значительного увеличения перфузионной потребности.

Обращает на себя внимание тот факт, что в условиях тотального облучения и облучения только тела, если судить по средним показателям, артериальное давление после начального этапа практически изменяется одинаково. Корреляция между этими кривыми приближается к единице, что с большой вероятностью указывает на одинаковый механизм их развития. Если это соображение примем за основу, то нужно полагать, что в обоих случаях, когда вазомоторные области головного мозга непосредственно не облучаются, развитие гипотензии происходит путем нарушения спинальных симпатических или периферических ауто- и нейро-гуморальных регуляторных механизмов. Если к этому добавить тот факт, что ОПС является первичным, пусковым, механизмом этих нарушений, то это соображение можно считать достаточно обоснованным.

Что же касается облучения только головы, то в этом случае ведущая роль должна принадлежать расстройству, обусловленному повреждением регуляторных механизмов, за счет непосредственного воздействия радиации на высшие регуляторные механизмы гемодинамики.

Суммируя вышесказанное, можно прийти к заключению, что радиационный шок должен быть обусловлен недостаточностью периферического кровообращения, т. е. некардиогенного происхождения, а включение кардиогенных компонентов имеет место только на терминальном этапе. Таким образом, выявляются сходства и различия радиационного шока с шоками любой другой этиологии. Естественно возникает вопрос — какие конкретные физиологические и патофизиологические механизмы лежат в основе васкулярной недостаточности, вызванной радиацией? Мы предполагаем, что основным пусковым механизмом является значительный рост метаболической активности, что должно быть связано с неадекватным ростом потребления кислорода в случае облучения больших объемов тканей.

ЛИТЕРАТУРА

1. Бутамо Н. В. Мед. радиолог., 2, 37—40, 1961.
2. Васадзе Г. Ш., Джанджгава М. М., Киквадзе Н. Н., Надарейшвили К. Ш., Починани Л. А., Шарашенидзе Н. Б., Хурция М. Н. Вопросы биол. и мед. техники, 1, 135—172, 1972.
3. Воробьев Е. И. Радиационная кардиология. Атомиздат, М., 1971.
4. Григорьев Ю. Г. Мед. радиолог., 2, II, 47—55, 1957.
5. Данияров С. Б. Лучевая болезнь и сердечно-сосудистая система. «Кыргызстан», Фрунзе, 1974.
6. Джанджгава М. М. Автореферат кандидат. дисс., Тбилиси, 1973.
7. Джанджгава М. М. Сообщения АН ГССР, 71, 697—700, 1973.
8. Джанджгава М. М., Надарейшвили К. Ш., Шарашенидзе Н. Б. Сообщения АН ГССР, 71, 445—448, 1973.
9. Карпман В. Л. Фазовый анализ сердечной деятельности. «Медицина», М., 1965.
10. Куршаков Н. А., Кириев П. М. Кардиология, 3, 2, 3—9, 1963.
11. Любимова Р. М. Бюлл. радиац. мед., 2, 61—64, 1956.
12. Надарейшвили К. Ш. Действие ионизирующей радиации на сердечно-сосудистую систему. «Мешинереба», Тбилиси, 1965.



13. Надарейшвили К. Ш., Джанджгава М. М., Почвани Л. А., Сანებლიძე О. И., Шарашенидзе Н. Б., Хурция М. Н. Вопросы мед. техники. Тр. БМТО Грузии, 2, 203—210, 1974.
14. Надарейшвили К. Ш., Джанджгава М. М., Шарашенидзе Н. Б. Сообщения АН ГССР, 71, 193—196, 1973.
15. Надарейшвили К. Ш., Шарашенидзе Н. Б., Джанджгава М. М. Сообщения АН ГССР, 71, 177—180, 1974.
16. Нефедов Ю. Г. В сб.: Исследование ранних реакций организма на радиационное воздействие. М., 14—42, 1960.
17. Тархан-Моурави И. Р. (Тарханов). О физиологическом действии X-лучей на центральную нервную систему. Больничная газета Боткина, № 33, 753; № 34, 785; Опыт над действием рентгеновских лучей на животный организм. Известия СПб биол. лаборатории, 1, 3, 47—52, 1896.
18. Теодореску-Екзарку И. Общая хирургическая агрессивология. Мед. издательство. Бухарест, 1972.
19. Тищенко М. И. Физиол. ж., СССР, 59, 8, 1216—1224, 1973.
20. Шарашенидзе Н. Б. Сообщения АН ГССР, 74, 437—440, 1974.
21. Шарашенидзе Н. Б., Надарейшвили К. Ш., Сანებლიძე О. И. Сообщения АН ГССР, 74, 181—184, 1974.
22. Шнейдеман А. А. Вестн. рентгенол. и радиолог., 30, 2, 24—26, 1955.
23. Herstner H. B., Brooks Ph. M., Vogel F. S., Smith S. Rad. Res., 5, 318, 1956.

ჰემოდინამიკური ძვრები უმწვავესი სხივური დაზავების დროს
 შინაურ კურდღლებში

კ. ნადარეიშვილი, ნ. შარაშენიძე, მ. ჯანჯავაძე, ო. სანებლიძე, მ. ხურცია

საქართველოს სსრ მეცნიერებათა აკადემიის ფიზიოლოგიის ინსტიტუტი, თბილისი
 რეზიუმე

ჰემოდინამიკის ძირითადი მაჩვენებლები შევისწავლეთ ზოგადი, თავის და სხეულის დანარჩენი ნაწილის უწყვეტი დასხივების პროცესში. გამოკვლევები ჩატარდა, როგორც ბუნებრივი, ისე ხელოვნური სუნთქვის პირობებში. პირველადი ფიზიოლოგიური ინფორმაცია, რომელიც ჰემოდინამიკისა და გულის ციკლის ფაზური სტრუქტურის 15 მაჩვენებელს შთიცავდა, მიიღებოდა ნახევრადავტომატურად პერფორონარზე და მუშავდებოდა ელექტრონულ-გამომთვლელ მანქანაზე კომპლექსური პროგრამით „კარდიოდინამიკა“.

გამოირკვა, რომ ხელოვნური სუნთქვის პირობებშიც კი რენტგენის სხივებით უწყვეტი ზემოქმედების პირველი 40 წუთის განმავლობაში ვითარდება პიოტენზია, რომელიც შედარებით ნაკლებად არის გამოხატული მხოლოდ თავის დასხივების შემთხვევაში. ამას თან სდევს სისხლის წითელბუცულობის და ქსოვილთა პერფუზიის მაჩვენებლების მკვეთრი ზრდა. დასხივების მე-40 წუთიდან სისხლის წნევა სპონტანურად იწყებს აწევას. ეს ეტაპი 1—1,5 საათის განმავლობაში გრძელდება, ხოლო წნევის დონე მხოლოდ თავის დასხივების შემთხვევაში აღწევს და აღემატება კიდევ საკონტროლო ცდების დონეს. ამის შემდეგ იწყება წნევის დაქვეითების მეორე ეტაპი და მიუხედავად ქსოვილთა პერფუზიის მაღალი დონისა, ვლინდება თვით პერფუზიის, ხოლო ცოტა მოგვიანებით, გულის ფუნქციის უკმარისობის ნიშნები, რაც სხვა ნებისმიერი ეტიოლოგიის შოკისათვის არის დამახასიათებელი. შრომაში განხილულია რადიაციული შოკის პათოგენეზის საკითხები და კარდიო-ჰემოდინამიკის მოშლის როლი დასხივებით გამოწვეული შეუქცევადი მდგომარეობის განვითარებაში.



HEMODYNAMIC CHANGES DURING SUPERACUTE RADIATION SICKNESS IN RABBITS

K. Sh. NADAREISHVILI, N. B. SHARASHENIDZE, M. M. JANJGAVA, O. I. SANEBLIDZE, M. N. KHURTSIA

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

Summary

The principal hemodynamic indices were studied in the process of whole-body and head irradiation, as well as with a continuous exposure of other parts of the body. Observations were made in the conditions of both natural and artificial pulmonary ventilation. Primary physiological information involving 15 indices of hemodynamic and cardiac cycle phasic structure was obtained semiautomatically on a punch paper and computed by a complex program "Cardiodynamics".

It has been demonstrated that even in the conditions of artificial ventilation during the first 40 minutes of a continuous exposure the animal develops hypotension that appears less pronounced in case of only head irradiation. This is followed by a sharp increase in minute volume and tissue perfusion. Spontaneous blood pressure elevation is in evidence with over 40 min. exposure, lasting 1—1.5 h, while blood pressure level, in case of only head irradiation, attains and even exceeds the control level. Then ensues the second stage of pressure fall and in spite of a high level of tissue perfusion, there is perfusion and cardiac insufficiency characteristic of a shock of any etiology. The problems of the radiation shock pathogenesis and the role of cardio-hemodynamic disorders in the development of irreversible condition due to the radiation exposure are discussed.

УДК 577.153.35:612.8.015

БИОФИЗИКА

ЭФФЕКТ НЕЙРОГОРМОНОВ НА Na, K-АТРАЗНУЮ СИСТЕМУ

З. П. Кометнани, Т. Я. Джаришвили

Институт физиологии АН ГССР, Тбилиси

Поступила в редакцию 17.1.1975

Показано, что до 0,5 мМ норэпинефрин (НЭ) и 5-гидрокситриптамин (5-ГТ) активируют, а гистамин (Г) и γ -аминомасляная кислота (ГАМК) тормозят Na, K-АТРАЗную активность фракция синаптических мембран. При больших концентрациях (выше 1 мМ) наблюдается обратная картина: НЭ и 5-ГТ тормозят, а Г и ГАМК активируют J. Показано, что в эффектах НЭ, 5-ГТ, ГАМК и Г не участвуют ионы Ca^{++} и циклическая АМР. Авторы приходят к выводу, что эти эффекты имеют функциональное значение и должны играть существенную роль в генерации электрической разности потенциалов на мембраны и в регуляции, в частности.

За последние годы стало очевидным, что нейрого르몬ы должны влиять на Na, K-АТРАЗную активность возбудимых мембран [1—4,9]. Так, например, в широких пределах концентраций было изучено действие ацетилхолина (АХ) на Na, K-АТРАЗу разных возбудимых мембран и показано, что механизм его воздействия зависит от характера изменений проницаемости, происходящих в мембранах [2]. Однако в отношении 5-гидрокситриптамина (5-ГТ), норэпинефрина (НЭ), γ -аминомасляной кислоты (ГАМК) и гистамина данные литературы не позволяют представить полную картину эффекта и часто носят противоречивый характер [1, 4]. Возникла необходимость выяснить эффект этих веществ на Na, K-АТРАЗу возбудимых мембран, так как, наряду с изменением проницаемости, изменение интенсивности электрогенного активного транспорта может играть существенную роль в химических синаптических передачах и в механизмах, связанных с изменением трансмембранного потенциала.

МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Активность Na, K-АТРАЗы определяли как оуабанинчувствительную часть суммарной АТРАЗы, используя оуабанин в концентрации 0,2 мМ. Оуабанинчувствительную часть принимали за Mg-АТРАЗную активность. Во всех опытах проводили преинкубацию ферментного препарата (20 мин, 37°, рН 7,6—7,8) в следующей среде: 126 мМ NaCl, 20 мМ KCl, 2,5 мМ $MgCl_2$, 30 мМ трис, при разных концентрациях нейрого르몬ов. Инкубацию (37°) начинали добавлением АТР (2,5 мМ) и оставляли добавлением трихлоруксусной кислоты (конечная концентрация 4%), при одновременном охлаждении до 2—4°. Соблюдалась линейная зависимость активности от количества белка (100—500 мкг в 2,5 мл конечном объеме проб) и от времени инкубации. Количество распавшегося АТР не превышало 20% его начальной величины. Белок 190



определяли по методу Лоури, неорганический фосфат — методом Фiske-Суббароу. В применяемых концентрациях исследуемые реагенты не влияли на метод определения фосфата и не изменялись в продолжение опыта. Для получения субклеточных фракций пользовались рекомендациями Де Робертиса и Уиттекера [5], применяя слабое («ручное») гомогенизирование. Объектом исследования служили фракции тяжелых микросом и синаптических мембран (СМ), которые получались после осмотического шока между слоями сахарозы 1,15—0,9 М. Na, K-АТФазная активность этих фракций была соответственно 10 и 40 мкмоль Р/час мг белок. В обеих фракциях почти полностью отсутствуют митохондрии и миелин. От легких микросом тяжелые микросомы отличаются малым содержанием РНК, а в фракции СМ почти полностью сконцентрированы неразрушенные соединительные комплексы [5].

Данные представлены в процентах (контрольная активность принята за 100%) и обработаны статистически. Число параллельных опытов равно 6. Для расчета средней квадратичной ошибки Na, K-АТФазной активности и процента были применены законы распространения средней ошибки для малых выборок. При достоверном различии от 100% (уровень значимости меньше 0,02) на графиках не откладывалась средняя квадратическая ошибка.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

На рис. 1 представлено влияние НЭ на Na, K-АТФазную и Mg-АТФазную активность и зависимость этого влияния от присутствия в

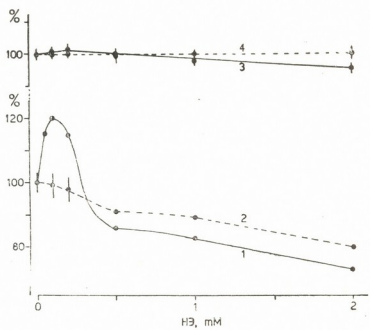


Рис. 1. Зависимость Na, K-АТФазной (кривые 1 и 2) и Mg-АТФазной (кривые 3 и 4) активностей фракции СМ от НЭ. Прерывистые кривые 2 и 4 представляют слу.ай, когда при прочих равных условиях в реакционной среде присутствует 0,4 мМ ЭГТА

инкубационной среде 0,4 мМ ЭГТА (этиленгликольтетраацетатилловая кислота). НЭ совершенно не изменяет Mg-АТФазную активность, тог-

да как при действии на Na, К-АТРазную активность имеет сложный эффект. Это выражается в том, что до концентрации 0,3 мМ НЭ увеличивает достоверное торможение. При добавлении же ЭГТА целиком снимается активизирующий эффект НЭ и уменьшается его тормозящая способность. Аналогичным образом воздействует на Na, К-АТРазную активность 5-ГТ и ЭГТА (рис. 2). Однако влияние 5-ГТ на Mg-

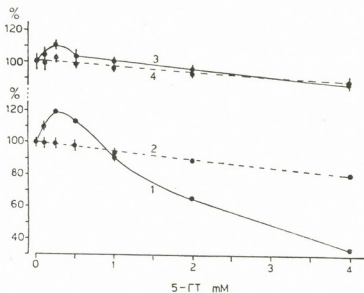


Рис. 2. Зависимость Na, К-АТРазной (кривые 1 и 2) и Mg-АТРазной (кривые 3 и 4) активностей фракции СМ от 5-ГТ. Кривые 2 и 4—см. рис. 1

АТРазную активность нужно считать достоверным, особенно при его больших концентрациях (2—4 мМ). Добавление 0,4 мМ ЭГТА не вносит существенных изменений в случае Mg-АТРазы.

В противоположность НЭ и 5-ГТ, гистамин при малых концентрациях (до 0,3 мМ) тормозит Na, К-АТРазную активность фракции СМ (рис. 3). При увеличении его концентрации в реакционной среде наблюдается достоверное увеличение Na, К-АТРазной активности. Добавление ЭГТА слабо влияет на торможение, но целиком снимает активацию. Аналогичное влияние оказывает гистамин на Mg-АТРазную активность. Однако в отличие от Na, К-АТРазы торможение Mg-АТРазы является недостоверным. Добавление 0,4 мМ ЭГТА целиком снимает эффект гистамина на Mg-АТРазную активность.

В отличие от других агентов ГАМК не активирует Na, К-АТРазу фракции СМ (рис. 4). Наблюдается слабое торможение Na, К-АТРазы, которое часто бывает недостоверным. Mg-АТРазная активность не чувствительна к ГАМК. Добавление 0,4 мМ ЭГТА в реакционную среду не вызывает заметных изменений в характере воздействия ГАМК на Na, К-АТРазу и Mg-АТРазу.

Таким образом, мы имеем полную картину воздействия НЭ, 5-ГТ, ГАМК и гистамина на Na, К-АТРазу фракции СМ. Имеется определенное сходство и разница в их эффекте. Качественная сторона эффекта всех нейрогормонов на Na, К-АТРазу зависит от их концентрации. 5-ГТ и НЭ при малых концентрациях активирует Na, К-АТРазу,



тогда как ГАМК и гистамин при этих концентрациях имеют тенденцию тормозить ее активность. При больших концентрациях H_2N -5-ГТ достоверно тормозят Na , K -АТРаду, гистамин достоверно активирует, а ГАМК возвращает активность к первоначальному уровню.

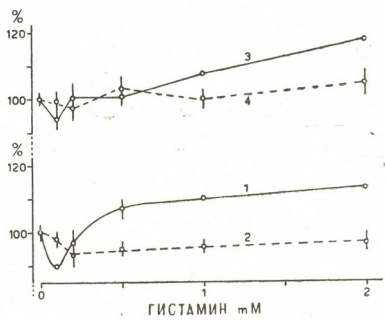


Рис. 3. Зависимость Na , K -АТРазной (кривые 1 и 2) и Mg -АТРазной (кривые 3 и 4) активностей фракции СМ от гистамина. Кривые 2 и 4—см. рис. 1

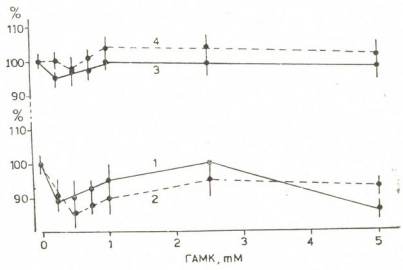


Рис. 4. Зависимость Na , K -АТРазной (кривые 1 и 2) и Mg -АТРажной (кривые 3 и 4) активностей фракции СМ от ГАМК. Кривые 2 и 4—см. рис. 1

Нужно отметить, что эффект 1—4 мМ ГАМК можно отнести скорее к увеличению активности, так как по сравнению с эффектом 0,2 мМ ГАМК имеет место достоверное увеличение активности, несмотря на недостаточную разницу по сравнению с 100% уровнем.

Невозможно объяснить двухфазный характер эффекта вышеупомянутых агентов на Na, K-АТФазу их взаимодействием с одним рецепторным участком. По-видимому, сложный характер эффекта является результатом суммарного действия двух качественно различных процессов, с участием двух рецепторов, имеющих различное сродство с нейрогормоном. Такое предположение не исключает возможности того, что если концентрация 2 мМ гораздо больше физиологической, то и эффекту в данном случае нельзя приписать физиологическое значение. Однако эффекты при малых концентрациях имеют функциональную значимость, так как при этих концентрациях они производят обратимые функциональные изменения в ЦНС.

Анализируя зависимость Mg-АТФазной активности от нейрогормонов, можно заключить, что для Na, K-АТФазы наиболее специфическим является НЭ, который совершенно не влияет на Mg-АТФазную активность. 5-ГТ и гистамин менее специфичны. Они слабо, но иногда достоверно, изменяют Mg-АТФазную активность. Судить о специфичности ГАМК трудно, так как ее эффект на Na, K-АТФазу слабо выражен.

В таблице приведены данные, которые показывают, что качественная сторона эффекта НЭ и 5-ГТ на Na, K-АТФазу микросом не отличается от их эффекта на Na, K-АТФазу фракции СМ. Однако в микросомальной фракции гистамин и ГАМК не изменяют достоверно Na, K-АТФазную активность.

Таблица

Влияние НЭ, 5-ГТ, гистамина и ц. АМР на Na, K-АТФазу микросом

Добавление	Na, K-АТФазная активность, %	Достоверность различия
—	100±3,5	
+0,2 мМ НЭ	132±5	0,02>P
+2 мМ НЭ	84±6	0,10>P
+0,2 мМ 5-ГТ	125±4,3	0,01>P
+2 мМ 5-ГТ	95±5	P<0,10
+0,2 мМ гистамин	100±4	P<0,10
+2 мМ гистамин	106±6	P<0,10
+0,05 мМ ц.АМР	92±3,5	P<0,10

Существует мнение, что в механизме воздействия нейрогормонов на мембранные процессы ведущую роль играют ионы Ca^{++} и циклическая АМР (ц. АМР). Для Na, K-АТФазы Ca^{++} является ингибитором при любых концентрациях. Поэтому объяснить эффект увеличения Na, K-АТФазной активности в результате высвобождения Ca^{++} нейрогормоном нельзя. Допущение иммобилизации Ca^{++} в результате воздействия нейрогормонов также противоречит логике, так как в этом случае ЭГТА должен увеличивать, а не снимать эффект. Не исключена возможность участия Ca^{++} в тормозящем эффекте НЭ и 5-ГТ. Однако эта возможность нам кажется маловероятной. Трудно поверить, что в результате воздействия нейрогормонов из мембран высвобождается такое количество Ca^{++} , которое, несмотря на присутствие 0,4 мМ ЭГТА, тормозит Na, K-АТФазу на 40% (рис. 1). 40%-ное торможение Na, K-АТФазы вызывает 0,3—0,5 мМ свободный Ca^{++} . Если учесть, что у нас в 2,5 мл реакционной среды 0,1—0,2 мг белка, тогда



количество связанного Ca^{++} должно быть больше 10^{-5} М Ca^{++} на 1 мг белка, что в 1000 раз превышает измеренные максимальные количества Ca^{++} [8].

Участие ц.АМР в механизме воздействия нейрого르몬ов также является маловероятным по следующим причинам. Во-первых, активность аденилциклазы в мозгу порядка 0,01—0,1 мкмоль/час мг белка [6, 7]. Легко рассчитать, что в наших условиях максимально возможное увеличение концентрации ц. АМР не будет превышать 0,05 мМ. При этих концентрациях ц. АМР не влияет на Na, К-АТФазную активность [4], а, по нашим данным (рис. 5), 15%-ное достоверное тормо-

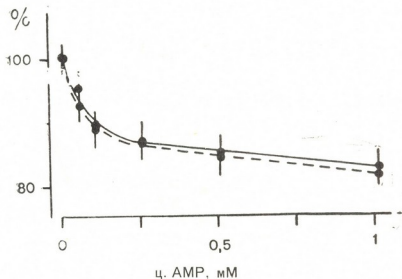


Рис. 5. Зависимость Na, К-АТФазы (сплошная кривая) и Mg-АТФазы (пунктирная кривая) фракции СМ от ц. АМР

жение можно получить при концентрации 0,5 мМ. Следовательно, даже при 1000-кратном увеличении активности аденилциклазы нейрого르몬ом концентрация производимой ц. АМР будет недостаточной для получения 20—40%-ного тормозящего эффекта. Во-вторых, добавление в реакционную среду 10 мМ теофиллина или 0,1 мМ ц. АМР не изменяло эффект нейрого르몬ов на Na, К-АТФазу.

Таким образом, можно заключить, что изменение Na, К-АТФазной активности является результатом непосредственного воздействия нейрого르몬ов на ферментную систему и не происходит посредством ионов Ca^{++} и ц. АМР. Однако остается возможность допустить, что механизм воздействия выражается посредством функционирования следующей схемы: нейрого르몬 — рецептор — конформационные изменения рецептора — Na, К-АТФазная система.

В заключение нужно подчеркнуть, что эффект малых концентраций (близких к физиологическим) нейрого르몬ов на Na, К-АТФазу, следовательно, на электрогенный активный транспорт, должен обладать функциональным значением и должен быть учтен при построении рациональной теории генерации разности электрического потенциала на возбудимых мембранах.

ЛИТЕРАТУРА

1. Глебов Р. Н., Дмитриева Н. М. Биохимия, 39, 822—827, 1974.
2. Кометиани З. П. Вопросы биохимии нервной и мышечной систем. «Мецниереба», Тбилиси, 1972, 57—67.
3. Кометиани З. П., Каландаришвили А. А. Биофизика, 14, 213—218, 1969.
4. Северин С. А., Болдырев А. А. ДАН СССР, 188, 1415—1417, 1969.
5. Handbook of Neurochemistry (Ed. A. Lajtha). Plenum Press. New York—London, 1969, II, 327—380.
6. Perkins J. P., Moore M. M. J. Biol. Chem., 245, 62—68, 1971.
7. Uzinov P., Weiss B. Neuropharmacology, 10, 697—708, 1971.
8. Williams R. J. P. Quart Rev. Chem. Soc., (London), 24, 331—335, 1970.
9. Yoshimura K. J. Biochem., 74, 389—391, 1973.

ნეიროჰორმონების ეფექტი Na, K ატფაზურ სისტემაზე

ზ. კომეტიანი, თ. ჯარიასვილი

საქართველოს სსრ მეცნიერებათა აკადემიის ფიზიოლოგიის ინსტიტუტი, თბილისი
რ ე ზ ი უ მ ე

ნორეპინეფრინი და 5-ჰიდროქსიტრიფტამინი 0,5mM-მდე, თავის ტვინის მიკროსომულ და სინაფსური მემბრანების ფრაქციაში, აქტივებენ Na, K-ატფაზას. უფრო მაღალი კონცენტრაციების დროს ადგილი აქვს ინჰიბიციას. ჰისტამინის და გამაამინოებროსმეკავას დაბალი კონცენტრაციები ინჰიბირებენ, ხოლო მაღალი კონცენტრაციები აქტივებენ სინაფსური მემბრანების Na, K-ატფაზას. გამაამინოებროსმეკავას ეფექტი სუსტად არის გამოხატული. ზგტა მთლიანად ხსნის ნეიროჰორმონების გამააქტივებელ ეფექტს და ამცირებს ინჰიბიციის ეფექტს. ნაჩვენებია, რომ ნეიროჰორმონების მოქმედებაში მონაწილეობას არ ღებულობს Ca⁺⁺ და ციკლური AMP. კეთდება დასკვნა, რომ აღნიშნულ ეფექტს აქვს ფიზიოლოგიური მნიშვნელობა.

EFFECT OF NEUROHORMONES ON Na, K-ATPase SYSTEM

Z. P. KOMETIANI, T. J. JARIASHVILI

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

S u m m a r y

It has been demonstrated that 0.5 mM norepinephrine and 5-hydroxytryptamine (5-HT) activate, while histamine and gamma-aminobutyric acid (GABA) inhibit Na, K-ATPase activity in the fraction of specific membranes. At higher concentrations (above 1 mM), vice versa, the former inhibit and the latter activate Na, K-ATPase activity. The effect of GABA is poorly exhibited. EGTA removes completely the activating effect of neurohormones and reduces the inhibiting effect. It is concluded that AMP and Ca⁺⁺ are not involved in the neurohormone effects.

ОБРАЗОВАНИЕ ГУМИНОПОДОБНОГО ВЕЩЕСТВА ГРИБОМ *PHOMA TRACHEIPHILA* В КУЛЬТУРЕ И ЕГО ОПТИЧЕСКИЕ ПАРАМЕТРЫ

А. А. Дзиеладзе

НИИ защиты растений ГССР, Тбилиси

Поступила в редакцию 6.2.1975

Мальсекко — болезнь, вызываемая грибом *Phoma tracheiphila*, сильно повреждает цитрусовые плантации. Мы исследовали оптические параметры спиртового экстракта чистой культуры данного гриба.

Методами исследования служили абсорбционная спектрофотометрия УФ и видимой области (спектрофотометр PE-402 фирмы Perkin-Elmer), ИК поглощение (UR-10 фирмы Карл-Цейс) и флуоресцентная спектрофотометрия (MPF-2a фирмы Hitachi). Спектры абсорбции снимали на спиртовых вытяжках. Записывали флуоресценцию мицелия гриба и спиртовой вытяжки (вытяжка с мицелия гриба скрашена в бледно-розовый цвет).

Спектры ИК и УФ поглощения «бледно-розового пигмента» мицелия гриба указывают, что в экстракте присутствует ароматика и допустимо присутствие $C=C$ — или кумулированной связи. В УФ и видимой области наблюдается два ярко выраженных интенсивных максимума поглощения: первый в области 200—310 нм, пик при 232 нм и второй в области 350—550 нм, пик при 450 нм [2, 3].

В спектре флуоресценции спиртового экстракта мицелия гриба присутствует узкополосный, ярко выраженный, интенсивный максимум при $\lambda=538$ нм и $\lambda=560$ нм. Спектр возбуждения флуоресценции «бледно-розового пигмента» указывает, что в данной флуоресценции «активными полосами» в спектре поглощения являются полосы с максимумами при 260, 297, 397 и 423 нм.

Известно, что при проникновении гриба *Phoma tracheiphila* в ткани хозяина наблюдается появление гуминообразного вещества, химический состав которого пока еще не известен. Оказывается определенное число грибов лаподобие *Phoma tracheiphila* образует гуминообразные вещества при проникновении в ткани хозяина. Этот факт известен довольно давно и исследованы его химизм (в частных случаях представлен как полифенольный комплекс) и физиологическая активность.

В самое последнее время гуминоподобные вещества определили как класс высокополимерных соединений [1], общими признаками которых являются аморфность, специфическая темная окраска, наличие кислотных функциональных групп и ароматического ядра в молекуле. Они хорошо растворимы в этиловом спирте, ацетоне. Ориентируясь на эти данные, мы подготовили спиртовой экстракт мицелия гриба и попытались определить класс оптических свойств. Сказалось, что в экстракте присутствует ароматика и $C=O$ связь, а также $COOH$ и $C=C$ — или кумулированная связь. В результате этих данных можно допустить, что наблюдаемое нами соединение, окрашенное в бледно-розовый цвет, присутствующее в спиртовом экстракте, является представителем класса высокополимерных гуминовых соединений. Вполне вероятно, что в нашем случае присутствует только фрагмент этого соединения, так как в искусственной среде (питательная среда Чапека) биохимическое окружение, подобное организму растения хозяина, отсутствует. То что мы получили гуминоподобное вещество в искусственной питательной среде, по-видимому, указывает на приоритет патогенного агента (гриба) в образовании данного вещества в организме хозяина. Такая позиция в аналогичных ситуациях представлена в работах Ловягина [4], Шиврина [5] и др.

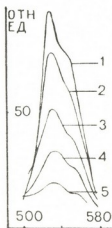


Рис. 1. Спектр флуоресценции спиртового экстракта чистой культуры гриба. Режим записи спектров: щель возбуждения—2 нм, щель флуоресценции—10 нм, усиление чувствительности—2. 1—среда Чапека; 2—среда+ Fe-ДТПУ 0,5 мл; 3—среда+ хелат 0,5 мл; 4—среда+ Fe-ДТПУ 0,2 мл; 5—среда+ хелат 0,2 мл.

вещества, вырабатываемого патогеном на базе биосубстрата растения хозяина.

ЛИТЕРАТУРА

1. Александрова И. В. Почвоведение, 12, 1962.
2. Дзnelадзе А. А. Сообщения АН ГССР, 76, 1974.
3. Дзnelадзе А. А. Сообщения АН ГССР, 77, 1975.
4. Ловягина Е. В. и др. Биохимия, 25, 1960.
5. Шиврина А. Н. и др. ДАН СССР, 132, 1960.

სოკო *PHOMA TRACHEIPHILA*-ს მიერ კულტურაში გუმიმსაგვარი ნივთიერების წარმოქმნა და მისი ოპტიკური პარამეტრები

ა. ძნელაძე

საქართველოს მეცნიერეთა დაცვის ს/კ ინსტიტუტი, თბილისი რეზიუმე

მრომაში მოცემულია სოკო *Phoma tracheiphila*-ს სპორტექსტრაქტის სპექტრული ანალიზის შედეგები.

მიღებულ შედეგებზე დაყრდნობით დასაშვებია, რომ მეცნიერ პატრონის შიკთავსში სოკოს გავრცელების კვალზე გუმისმაგვარი ნივთიერების სინთეზში პარაორბიტე უნდა მიენიჭოს სოკოს.

THE HUMIC SUBSTANCE PRODUCTION IN CULTURE BY *PHOMA TRACHEIPHILA* AND ITS OPTICAL PARAMETERS

A. A. DZNELADZE

Institute of Plant Protection, Tbilisi, USSR

Summary

The results of spectral analysis of alcohol extract are presented. It is suggested that the "light-pink pigment" in alcohol extract belongs to high polymeric substances.

Экспериментальные данные указывают, что трагируемое вещество является оптически активным и флуоресцирует. В спектре возбуждения флуоресценции осуществляется миграция энергии с УФ области в зеленую. Такая спектральная активность, по-видимому, выполняет и конкретную физиологическую миссию в осуществлении главной цели патогена — обеспечить максимальное окисление субстрата. Само появление гумиобразного вещества — результат воздействия патогена на хозяина, но надо заметить, что действие патогена на этом не кончается, т. к. выделенный с мицелия гриба агент является оптически активным и при том в той области света (УФ), избыточное присутствие которой в биосубстрате чревато патологическими изменениями последнего, т. е. надо предположить, что кроме ранее допущенной химической позиции воздействия патогена на организм растения хозяина заслуживает внимания и возможность оптического воздействия.

С целью наблюдения за связью между оптической активностью патогена и его токсическим действием, химические агенты (хелат и Fe-ДТПУ) вносились в питательную среду гриба. Оказалось, что в таком варианте оптические параметры бледно-розового пигмента сильно угнетены (рисунок), причем низкие концентрации более эффективны. Данный результат определенно указывает на связь оптической активности и эффективности патогенного действия гумиобразного

вещества, вырабатываемого патогеном на базе биосубстрата растения хозяина.

ХРОНИКА

10—13 апреля 1975 года в зале заседаний Академии наук Грузинской ССР была проведена научная конференция, посвященная 90-летию со дня рождения выдающегося физиолога современности, академика Ивана Соломоновича Бериташвили. Организаторы конференции — Институт физиологии АН ГССР, Грузинское общество физиологов, Кафедра физиологии человека и животных Тбилисского государственного университета.

Конференцию открыл вице-президент АН ГССР, академик Е. К. Харაдзе. В вступительном слове академик Е. К. Харაдзе отметил значение фундаментальных исследований И. С. Бериташвили в развитии науки, его роль как крупного организатора науки, основателя физиологической школы в Грузии.

Первое заседание конференции было посвящено жизни и научной деятельности академика И. С. Бериташвили. С докладами выступили: профессор Н. Н. Даидишвили, член-корреспондент АН ГССР, профессор Т. Н. Оиани, профессор Т. К. Иоселиани, член-корреспондент АН СССР, профессор А. И. Ройтбак, член-корреспондент АН ГССР, профессор А. Н. Бакурадзе, профессор В. М. Мосидзе, профессор С. М. Джорбенадзе. Докладчики коснулись разных этапов научной деятельности И. С. Бериташвили. Академик С. Г. Каухчишвили и академик А. А. Прагишвили отметили тот интерес, который проявлял И. С. Бериташвили к истории и психологии. С воспоминаниями выступили академик А. Д. Зурабашвили, член-корреспондент АН СССР А. И. Карамян, член-корреспондент АН УССР Ф. Н. Серков, член-корреспондент АМН СССР М. М. Хананашвили, профессор А. Б. Коган, доктор медицинских наук М. Я. Рабинович. Был показан фильм «И. С. Бериташвили».

11 и 12 апреля на четырех последующих заседаниях конференции было заслушано 17 докладов по актуальным вопросам современной физиологии.

Академик АН ГССР, профессор П. А. Кометиани выступил с докладом о биохимических подходах к изучению молекулярных основ памяти животных.

Проблеме памяти были посвящены доклады члена-корреспондента АМН СССР, профессора М. М. Хананашвили (Ленинград) и ассистента кафедры физиологии человека и животных Тбилисского государственного университета Т. А. Натишвили.

О закономерностях условнорефлекторной деятельности, о роли различных структур головного мозга животных в механизмах выработки условных рефлексов, об электрофизиологических коррелятах формирования прямых и обратных временных связей доложили заведующий кафедрой физиологии человека и животных Тбилисского государственного университета, профессор А. Н. Брегадзе, д. м. н. М. Я. Рабинович (Москва), профессор Э. А. Костандов (Москва), профессор Р. А. Дуриния (Москва). Член-корреспондент АМН СССР, профессор С. Н. Хечинашвили сделал доклад о слуховых вызванных потенциалах периферического и центрального происхождения у человека.

Выяснению механизмов деятельности корковых нейронов были посвящены доклады профессора А. Б. Когана (Ростов на/Дону), члена-корреспондента АН СССР,



профессора А. И. Ройтбака и члена-корреспондента АН УССР, профессора Ф. Н. Серикова (Киев).

Профессор Н. Н. Дзидзишвили рассказал слушателям об эмоциональных и псевдоэмоциональных реакциях животных. Член-корреспондент АН ГССР, профессор А. Н. Бакурадзе доложил о роли некоторых экстрагипоталамических структур мозга в регуляции пищевого поведения.

Новые данные о механизмах сна были представлены в докладе члена-корреспондента АН ГССР, профессора Т. Н. Ошвани.

Профессор Г. И. Мchedlishvili сделал доклад об общих закономерностях функционирования артериальной системы головного мозга.

Дополнительно к программе был заслушан доклад С. А. Чепурнова, касающийся роли мидл-лейвдинго комплекса в регуляции памяти животных.

В работе конференции принимали участие также физиологи из Баку и Сухуми.

После окончания конференции участники побывали на могиле академика И. С. Бериташвили и возложили цветы.

Л. Р. Квирквелия

Технический редактор Н. А. Онашова
Корректор Г. Н. Дугладзе

Сдано в набор 6.5.1975; подписано к печати 9.7.1975; формат бумаги 70×108^{1/16}; бумага № 1; печатных л., 8,4; уч.-изд. л. 7,46; УЭ 11563; тираж 1000; заказ 1660; цена 70 коп.

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

საჭ. სსრ მეცნ. აკად. სტამბა, თბილისი, 380060, კუტუზოვის ქ., 19
Типография АН Груз. ССР. Тбилиси, 380060, ул. Кутузова, 19

К СВЕДЕНИЮ АВТОРОВ

1. В журнале печатаются не опубликованные в других изданиях, завершённые, оригинальные работы экспериментального и теоретического характера по утвержденным редколлегией разделам биологии (см. стр. 2 обложки), обзорные статьи, написанные по заказу редколлегии, а также краткие сообщения и рецензии. Периодически в журнале будет помещаться краткая хроника о проведенных в республике научно-организационных мероприятиях.

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

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

3. **Рукопись** (в двух экземплярах) должна быть тщательно проверена, иметь направление учреждения, решение Ученого совета (кафедры, отдела, лаборатории) о целесообразности ее публикации и заключение экспертной комиссии. На первой странице слева приводятся индексы статьи (УДК) по таблицам Универсальной десятичной классификации, 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 авторами. В конце статьи необходимо указать полностью имя, отчество и фамилию авторов, домашний и служебный адреса, телефоны.

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

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

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

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

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

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

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

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

12. Авторы получают бесплатно 25 отдельных оттисков.

824/157



Цена 70 коп.

Индекс 76204