

7. Попушой И. С., Милько А. А. Уч. записки Кишиневского университета. Кишинев 23, 1, 1956.
8. Симонян С. А. Паразитные грибы на растениях ботанических садов и парков Армянской ССР. Ереван, 1965.
9. Симонян С. А. Микофлора ботанических садов и дендропарков Армянской ССР. Ереван, 1981.
10. Тетереаникова-Бабаян Д. Н. Обзор грибов из рода *Septoria* на культурных и дикорастущих растениях Армянской ССР. Ереван, 1962.
11. Ячевский А. А. Определитель грибов. II, С—Петербург, 1917.
12. Saccardo P. A. Sylloge fungorum omnium hucusque cognitorum. 10, 1892, 24, 1926, 25, 1931.

«Биолог. ж. Армении», т. XXXV, № 8, 1983

УДК 616.12—091.811

ВОЗДЕЙСТВИЕ КОРОНАРОРАСШИРЯЮЩЕГО НЕЙРОГОРМОНА С НА ТУЧНЫЕ КЛЕТКИ СЕРДЦА КРЫС

С. С. АБРАМЯН, А. А. ГАЛОЯН

Нейрогормон С вызывает увеличение числа тучных клеток в ткани сердца, усиливает процесс их дегрануляции. Предполагается участие последних в обнаруженном ранее сосудорасширяющем эффекте нейрогормона С благодаря наличию в гранулах этих клеток гистамина—активного вазодилататора и геларина—регулятора проницаемости сосудов.

Ключевые слова: нейрогормон С, тучные клетки.

Нашими предыдущими исследованиями [1,10] установлено, что нейрогормон С, впервые выделенный в 1962 г. из гипоталамонеуро-гипофизарной системы различных млекопитающих [2], расширяет просвет капилляров миокарда и интрамуральных нервных ганглиев сердца крыс, увеличивает число функционирующих капилляров, приходящихся на единицу площади среза сердца. Такое же сосудорасширяющее действие он оказывает и на наркотизированных крыс, однако, как было замечено нами в опытах, под действием наркоза нарушаются какие-то регуляторные механизмы, связанные с адаптивными функциями сердца.

Известно, что в сердечных компенсаторно-адаптационных процессах, а также в местном механизме управления кровотоком активная роль принадлежит тучным клеткам [5,8]. Они оказывают наибольшее влияние на систему микроциркуляции [13]. Естественно, нас заинтересовала реакция тучных клеток сердца ненаркотизированных и наркотизированных крыс на введение в организм животного нейрогормона С.

Материал и методика. Исследования проведены на 40 нелинейных белых лабораторных крысах-самцах массой 120—150 г. Из них обследованы 20 крыс под гексеналовым наркозом (из расчета 16 мг на 100 г массы животного), 20—без наркоза. В каждой из этих двух серий животные подразделялись на три группы: нормальные, контрольные и экспериментальные. Группа нормальных крыс никаких инъекций не получала; контрольным животным за 30 мин до умерщвления (декапитацией) внутривенно

вводили физиологический раствор из расчета 0,5/100 г; группе экспериментальных крыс за 30 и 60 мин до умерщвления также внутривенно вводили нейрогормон С из расчета 0,5 мл/100 г, что соответствует 400 миллиединицам (за миллиединицу (МЕД) активности нейрогормона С принимают активность нейрогормона, ингибирующего 1 МЕД 3',5'-АМФ-фосфодиэстеразы гомогената мозга крыс в 1 мин).

Кусочки ткани из области основания сердца быстро промывали в холодном физиологическом растворе и фиксировали смесью Буэна в течение 48 ч, затем отмывали в часто сменяемых спиртах возрастающей крепости, обезжовивали и заливали в парафин, после чего приготавливали серийные срезы толщиной 6 мкм. Тучные клетки на срезах выявляли ранее примененным для этих целей в нашей лаборатории [11] гистохимическим методом Гомори [9] с окрашиванием срезов хромовым гематоксилином и доокраской основным фуксином, или же окрашиванием срезов азури-эозином, а также метиловым синим. Для подсчета количества тучных клеток выбирали срезы примерно одинаковой площади (32—36 мм²) с одновременно видимыми в них нервными ганглиями, участками миокарда и крупными сосудами. Подсчет количества тучных клеток производили на каждом 4—5-м срезе; подсчитывали их общее количество, а также их количество отдельно в области нервных ганглиев, вокруг крупных сосудов и у капилляров. Одновременно вели подсчет дегранулированных тучных клеток. Статистическая обработка полученных результатов произведена с учетом изменчивости признака в пределах организма по методике Катинаса и др. [7]; достоверность результатов определена по общеизвестной методике [12]. Результаты подсчета обобщены в приведенной ниже таблице: в ней среднеарифметические данные для каждой группы крыс достоверны: $T_{\text{выч.}} > T_{\text{табл.}}$ при уровне значимости 0, 001—0,005.

Результаты и обсуждение. Тучные клетки сердца крыс обладают выраженной базофильной зернистостью в цитоплазме. Они преимущественно овальной формы, но встречаются и округлые, лопастевидные и конусовидные (рис., 1). Ядра клеток в основном округлой формы с небольшим количеством хроматина, в большинстве случаев занимают центральное положение в клетке.

У ненаркотизированных крыс в норме тучные клетки чаще—59,6% от всего их количества—встречаются в области интрамуральных нервных ганглиев, примыкая иногда непосредственно к нейронам. Среди мышечных волокон (у капилляров) они встречаются значительно реже—18,8%; вокруг крупных сосудов—21,6% (табл.).

У контрольных крыс по сравнению с нормой наблюдается незначительное уменьшение количества тучных клеток, обозначается некоторый сдвиг в их распределении; окраска их усиливается, гомогенно закрывая всю клетку и стирая четкие до этого очертания ядра.

Под воздействием нейрогормона С общее количество тучных клеток увеличивается примерно вдвое в первые 30 мин после введения, а затем, к 60-й мин, несколько уменьшается по сравнению с предыдущим сроком. Окраска клеток еще более усиливается, наблюдается четкая грануляция; гранулы заполняют весь объем клетки, тесно примыкая друг к другу, при этом нередко очертания клетки становятся нечеткими, извилистыми из-за гранул, примыкающих к мембране. На этом общем фоне реакция клеток в разных отделах сердца на воздействие нейрогормона С неодинакова. Количественные изменения у них в области нервных ганглиев практически аналогичны общим изменениям; вокруг крупных сосудов они слабо реагируют на воздействие нейрогормона; количество их у капилляров продолжает увеличиваться и после 30-й мин воздействия и к 60-й мин достигает 268% от нормы, при этом процентное

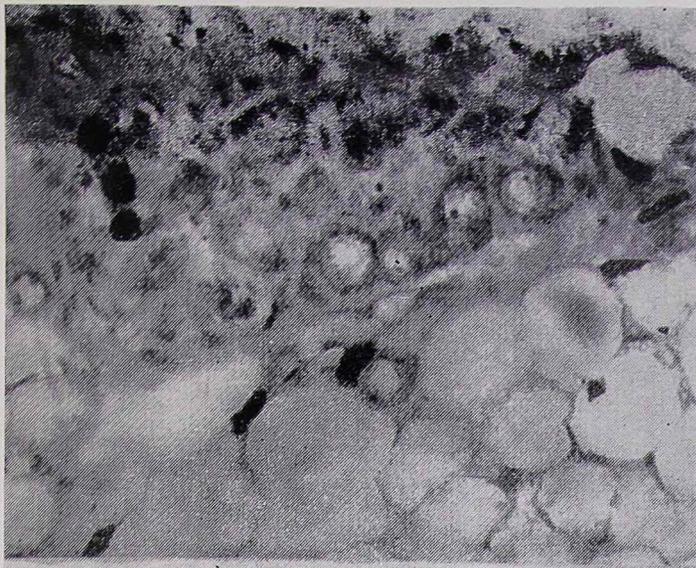
Тучные клетки сердца крыс в условиях воздействия нейрогормона С

Условия опыта	Среднее число тучных клеток на 1 срезе				Из общего числа количество де-гранулированных клеток	
	всего	в том числе:				
		в области нервных ганглиев	вокруг крупных сосудов	у капилляров		
Ненаркотизированные крысы						
Н о р м а 4 крысы	65,6±2,2	39,1±3,6	14,2±1,6	12,3±1,8	15,6±2,1	
Контроль 4 крысы	58,9±3,4	40,6±2,2	8,0±1,2	10,3±1,1	12,5±1,7	
Изменения по сравнению с нормой, ± %	-10,2	+3,8	-43,7	-16,3	-19,9	
Достоверность изменения	P < 0,2	P < 0,2	P < 0,025	P < 0,4	P > 0,4	
Воздействие С	30 мин 6 крыс	124,8±9,4	87,4±8,6	16,4±1,3	21,0±1,9	43,5±3,6
	Изменения по сравнению с нормой, ± %	+90,2	+123,5	+15,5	+70,7	+178,8
	Достоверность изменения	P > 0,005	P > 0,005	P < 0,2	P < 0,075	P > 0,001
	60 мин 6 крыс	110,8±6,5	63,4±3,6	14,4±0,9	33,0±3,2	39,3±1,9
Изменения по сравнению с нормой, ± %	+68,9	+62,1	+1,4	+168,3	+151,9	
Достоверность изменения	P < 0,001	P > 0,005	P < 0,5	P < 0,001	P > 0,001	
Наркотизированные крысы						
Н о р м а 4 крысы	50,2±2,2	37,6±2,1	1,4±0,2	11,2±0,6	8,0±0,9	
Контроль 4 крысы	79,4±2,9	68,6±2,7	6,4±0,3	4,4±0,7	11,6±0,8	
Изменения по сравнению с нормой, ± %	+58,2	+82,4	+327,1	-60,7	+45,0	
Достоверность изменения	P < 0,001	P < 0,001	P > 0,001	P < 0,001	P < 0,025	
Воздействие С	30 мин 6 крыс	110,4±6,3	92,1±3,9	6,1±0,7	12,2±1,8	31,5±1,8
	Изменения по сравнению с нормой, ± %	+119,9	+144,9	+325,7	+8,9	+293,8
	Достоверность изменения	P > 0,001	P > 0,001	P > 0,001	P > 0,5	P > 0,001
	60 мин 6 крыс	136,5±3,2	93,5±2,1	12,5±0,8	30,5±1,7	50,8±2,7
Изменения по сравнению с нормой, ± %	+171,9	+148,7	+792,9	+172,3	+535,0	
Достоверность изменения	P > 0,001	P > 0,001	P > 0,001	P > 0,001	P > 0,001	

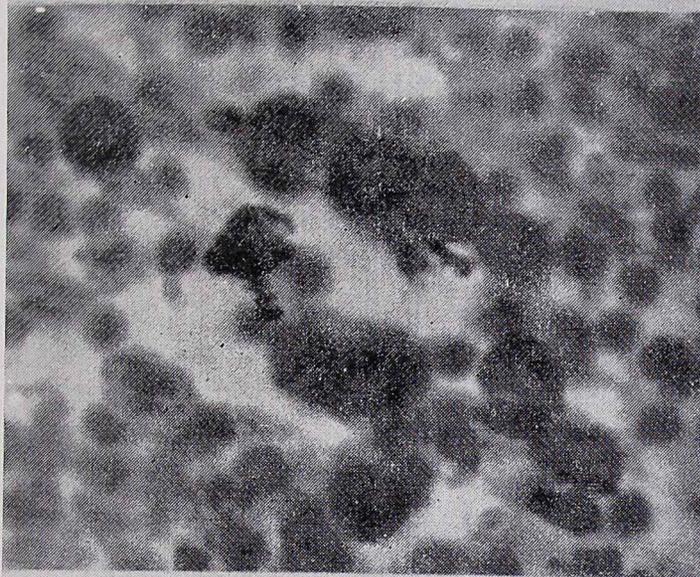
содержание их в общем количестве (доля) значительно повышается.

У наркотизированных крыс в норме несколько иное распределение тучных клеток на рассматриваемых участках сердца. У контрольных животных количество их увеличивается незначительно, а под воздействием нейрогормона С—довольно интенсивно.

Нейрогормон С параллельно с увеличением количества тучных клеток усиливает и процесс их дегрануляции. Весьма примечательна



1



2



3

Рис. Тучные клетки в срезах сердца крыс: 1. Из области интрамуральных первичных ганглиев. Окраска азур-эозином; ок—гамаль $\times 1,7$; об. $\times 25$. 2. Дегранулированные. Хромовый гематокселин по Гомори; ок. $\times 10$; об. $\times 100$. 3. Дегранулированные; четко наблюдается вакуолизация в клетке. Хромовый гематокселин по Гомори; ок. $\times 10$; об. $\times 100$.

картина дегрануляции: В одних случаях клетка дегранулирует без увеличения своих размеров (рис., 2), в других—разбухает, вакуолизируется; вакуолизация чаще всего начинается с ее периферии (рис., 3).

У ненаркотизированных крыс в норме дегранулирует 23,1% всех тучных клеток, в контроле—21,1%, после введения нейрогормона С—уже одна треть всех клеток. У наркотизированных крыс в норме и контроле дегранулирует сравнительно меньшая часть тучных клеток—14—16, через 30 мин после введения нейрогормона—28,1, а на 60-й мин—более 37% всех тучных клеток.

С выходом гранул из тучных клеток при их дегрануляции, видимо, связано участие тучных клеток в местных механизмах управления кровотоком и проницаемостью капилляров.

У ненаркотизированных крыс, в отличие от наркотизированных, через 60 мин после введения нейрогормона С наблюдается тенденция к нормализации количества тучных клеток, в том числе и дегранулированных, что коррелирует с полученными нами ранее данными о диаметре и количестве функционирующих капилляров в миокарде [1,10]: в серии экспериментов на ненаркотизированных крысах в первые 30 мин после введения нейрогормона увеличение кровотока происходит за счет резкого расширения просвета капилляров с одновременным нарастанием числа функционирующих капилляров, затем они несколько суживаются, проявляя тенденцию к нормализации, а число функционирующих капилляров на единицу площади среза продолжает увеличиваться. У наркотизированных крыс и диаметр, и число функционирующих капилляров продолжают увеличиваться на протяжении всего эксперимента.

Наблюдаемое нами увеличение количества тучных клеток и усиление процесса их дегрануляции под воздействием нейрогормона С, несомненно, ведет к увеличению содержания гистамина, так как известно [20], что между этими двумя процессами существует строгая корреляция.

Экспериментально доказано, что высвобождение гистамина в самых больших количествах (более чем 80%) может и не вызывать изменений в проницаемости капилляров [17], так как освободившийся гистамин тут же инактивируется с участием известных в литературе трех разных ферментов: ацетилирующего фермента, диаминооксидазы и метилирующего фермента [19].

Содержание свободного гистамина быстро уменьшается: после одного оборота крови в общем кровообращении содержание гистамина в ней уменьшается на 50—70% [16].

Мы допускаем также, что регулирующее действие на коронарное кровообращение нейрогормон С оказывает и посредством гепарина, высвобождающегося из тучной клетки при ее дегрануляции. Гепарин, как известно, участвует в механизмах адаптации и защиты за счет уменьшения сосудистой проницаемости [4,6], обеспечивает равновесность системы свертывание—антисвертывание крови [14].

Механизм коронарорасширяющего действия нейрогормона С связывают также с циклическим 3',5'—АМФ. Галоян с соавтор. [3] наблю-

дали повышение уровня цАМФ в сердце под воздействием нейрогормона С путем ингибирования активности 3',5'—АМФ фосфодиэстеразы.

В зависимости от энзиматического аппарата в разных клетках механизмы регулирования уровня цАМФ аминами, гормонами и фармакологическими соединениями различны. В числе указанных агентов уровень цАМФ повышает и гистамин [15,18].

Таким образом, можно полагать, что в механизме коронарорасширяющего эффекта нейрогормона С кроме гистамина участвуют цАМФ и гепарин.

Приведенные нами данные, естественно, не отражают всего многообразия действия нейрогормона С на коронарный кровоток. Установить тонкие взаимосвязи в этом широком диапазоне функций нейрогормона С, расшифровать сложный механизм его действия—задача наших дальнейших исследований.

Институт биохимии АН Армянской ССР

Поступило 19.IV 1982 г.

ԱՆՈՒՍԱԼԱՅԻՆՉ Շ ԵՆՅՐՈՂՈՐՄՈՆԻ ԱԶԻԵՑՈՒԹՅՈՒՆԸ ԱՌՆԵՏՆԵՐԻ ՍՐՏԻ ՊԱՐԱՐՏ ԲՋԻՋՆԵՐԻ ՎՐԱ

Ս.ՐՐԱԶԱՄՅԱՆ Ա. Ս., ԳԱԼՈՅԱՆ Ա. Ա.

Ցույց է տրված, որ հիպոթալամիկ Շ նեյրոհորմոնը առնետներին ներերակային ներարկումից 30 և 60 րոպե անց սրտի հյուսվածքում ավելացնում է սլարարտ բջիջների ընդհանուր քանակը, ինչպես նաև արագացնում է նրանցից հատիկների արտազատման պրոցեսը: Ենթադրվում է, որ սլարարտ բջիջները նպաստում են սրտի ներպատային նյարդային հանգույցների և սրտամկանի մազանոթների քանակի ավելացմանը և վերջիններիս տրամագծի լայնացմանը Շ նեյրոհորմոնի ազդեցության տակ սլարարտ բջիջներից արտազատված հիստամինի (որպես անոթալայնիչ նյութ) և հեպարինի (որպես անոթների թափանցելիության կարգավորիչ) շնորհիվ:

THE INFLUENCE OF THE CORONARODILATATIVE NEUROHORMONE "C" ON MAST CELLS OF THE RAT'S HEART

S. S. ABRAMIAN, A. A. GALOYAN

The hypothalamic neurohormone "C" increases the quantity of mast cells and intensifies the process of their degranulation after 30 and 60 min of its intravenous injection. It is supposed that under the action of the neurohormone "C" the mast cells participate in the increase of the quantity of functional capillaries and the expansion of their diameter in rat's heart as demonstrated in our previous papers. The participation of histamine (as a vasodilatator) and heparine (as a regulator of the vessel's permeability) releasing from the degranulated mast cells is also suggested.

Л И Т Е Р А Т У Р А

1. Абрамян С. С., Ростомян М. А., Галоян А. А. Кровообращение, 8, 2, 12—17, 1975.

2. Галоян А. А. Докл. АН Арм. ССР, 34, 3, 109—111, 1962.
3. Галоян А. А., Гурвиц Б. Я., Погосян М. А. Вopr. биохим. мозга, 11, 89—96, 1976.
4. Горизонтова М. П. Тез. 2-й всесоюз. конф. по микроциркуляции, М., 39—40, 1977.
5. Мелешин С. В., Плейшаков В. П. Научн. тр. Новосибирского мед. ин-та, 75, 59—61, 1974.
6. Назаров Г. Ф. Тез. 2-й всесоюз. конф. по микроциркуляции 164—165, М., 1977.
7. Катинас Г. С., Булгак В. И. и др. Архив АГЭ, 9, 97—104, 1969.
8. Мелешин С. В., Иркин И. В. и др. Научн. тр. Новосибирского мед. ин-та, 75, 55—59, 1974.
9. Пирс Э. Гистохимия. Теоретическая и прикладная. М., 1962.
10. Ростомян М. А., Абрамян С. С., Галоян А. А. Кровообращение, 10, 4, 3—7, 1977.
11. Ростомян М. А., Галоян А. А. Биолог. ж. Армении, 24, 1, 24—30, 1971.
12. Урбах В. Ю. Математическая статистика для биологов и медиков, 324, М., 1963.
13. Чернух А. М., Александров П. Н., Алексеев О. В. Микроциркуляция, 456, М., 1975.
14. Шурип С. П. Мат-лы 3-го Всесоюз. совещ. по соединит. ткани, Новосибирск, 17—25, 1968.
15. Skolnick P., Huang M. et al. J. Neurochem., 21, 1, 237—240, 1973.
16. Ćirstea M., Grünspan M. J. Physiol., Paris, 51, 4, 771—785, 1959.
17. Johnson F. R., Moran H. C. Proc. Soc. Exptl. Biol. Med., 123, 886—889, 1966.
18. Rall T. W., Gilman A. G. Neurosci. Res. Progr. Bull., 8, 267—279, 1970.
9. Schayer R. M. J. Biol. Chem., 199, 1, 245—250, 1952.
0. Schayer R. W. Am. J. Physiol., 186, 2, 199—202, 1956.

«Биолог. ж. Армении», т. XXXV, № 8, 1982

УДК 577.155.2

НЕКОТОРЫЕ ВОПРОСЫ ИЗУЧЕНИЯ СУБСТРАТНОЙ СПЕЦИФИЧНОСТИ НУКЛЕАЗ, ГИДРОЛИЗУЮЩИХ ОДНОНИТЕВЫЕ ПОЛИНУКЛЕОТИДЫ

Ж. И. АКОПЯН, Р. Е. АБРАМОВ

Обсуждаются некоторые вопросы субстратной специфичности нуклеаз; гидролизующих одонитевые молекулы нуклеиновых кислот, в частности, влияние условий гидролиза на специфичность этих ферментов.

Ключевые слова: ДНаз, нуклеаза, эндонуклеаза.

В предыдущем сообщении [4] нами были представлены данные о субстратной специфичности нуклеаз из различных биологических объектов, преимущественно гидролизующих одонитевые полинуклеотиды. В настоящем обзоре мы попытаемся обобщить результаты, полученные рядом авторов, которые использовали для выделения специфических нуклеаз другие биологические источники.

В 1977 году Томилиным и др. была описана нуклеаза из *M. luteus*, которая избирательно действует на депурицированные участки молекулы ДНК и не проявляет заметной активности по отношению к молекуле нативной ДНК. Фермент (АП—эндонуклеаза II) избирательно вызывает одонитевые разрывы в двухтяжевой или одотяжевой ДНК,