

Издается с 1946 года
Айастанн кенсабанакан андех

Խմբագրական կոլեգիա՝ Մ. Մ. Ավագյան, Վ. Ն. Ավետիսյան, Է. Գ. Աֆրիկյան (գլխավոր խմբագիր), Հ. Գ. Բակլավադյան, Հ. Գ. Բատիկյան, Ա. Շ. Գալստյան (գլխ. խմբագրի տեղակալ), Փ. Ի. Հակոբյան, Վ. Հ. Ղաղարյան, Կ. Ս. Մարչանյան (պատ. քարտուղար), Ս. Գ. Մովսիսյան, Ս. Հ. Մովսիսյան:

Խմբագրական խոսեհուրդ՝ Ն. Ն. Ակրամովսկի, Վ. Շ. Աղաբաբյան, Հ. Ս. Ավետիսյան, Է. Գ. Աֆրիկյան (խորհրդի նախագահ), Գ. Ն. Բարսյան, Ս. Ա. Բակունց, Գ. Ս. Դավթյան, Ա. Լ. Թախտաչյան, Պ. Ա. Խուրշուդյան, Ս. Կ. Կարապետյան, Ն. Հ. Հասրաթյան, Մ. Գ. Հովհաննիսյան, Լ. Լ. Հովսեփյան, Լ. Ս. Ղամբարյան, Ա. Ա. Մաթևոսյան, Մ. Խ. Չալախյան, Ս. Հ. Պողոսյան, Մ. Ն. Տեր-Մինասյան:

ԽՄԲԱԳՐՈՒԹՅԱՆ ՀԱՍՑԵՆ՝

Երևան—19, Բարեկամության, 24գ, Հեռ. 58-01-97

Редакционная коллегия: Ц. М. Авакян, В. Е. Аветисян, Ж. И. Акопян, Э. К. Африкян (главный редактор), О. Г. Баклаваджян, Г. Г. Батикян, А. Ш. Галстян (зам. главного редактора), В. О. Казарян, К. С. Марджанян (ответ. секретарь), С. Г. Мовсесян, С. О. Мовсесян.

Редакционный совет: А. С. Аветян, В. Ш. Агабабян, Н. Н. Акрамовский, Э. А. Асратян, Э. К. Африкян (пред. совета), Д. Н. Бабалян, С. А. Бакунц, Г. С. Давтян, Л. С. Гамбарян, С. К. Карапетян, А. А. Матевосян, М. Г. Оганесян, Л. Л. Осипян, С. А. Погосян, А. Л. Тахтаджян, М. Е. Тер-Минасян, П. А. Хуршудян, М. Х. Чайлахян.

© Издательство АН Армянской ССР, 1978 г.

АДРЕС РЕДАКЦИИ: 375019, Ереван-19, Барекамутян 24г, тел. 58-01-97.

ВЫДЕЛЕНИЕ И ХАРАКТЕРИСТИКА НЕКОТОРЫХ ГИПОТАЛАМИЧЕСКИХ ПЕПТИДОВ

А. А. АРУТЮНЯН, В. Т. ГАЛФАЯН, Т. Н. АКОПЯН, Д. К. ДЕМИРЧЯН,
 Р. О. ҚАРАПЕТЯН, А. А. ГАЛЮЯН

Методами гель-фильтрации, ионообменной хроматографии, хроматографии на бумаге и высоковольтного электрофореза из гипоталамуса крупного рогатого скота выделен ряд пептидных соединений. Показано, что в основном получены короткие 5—6-членные пептиды. Изучена неполная первичная структура трех пептидов.

Гипоталамус является важным нейросекреторным участком мозга, продуцирующим ряд гормонов и физиологически активных соединений пептидной природы. В настоящее время установлена первичная структура ряда рилизинг гормонов [1, 2], вещества Р [3], нейротензина [4], энкефалинов [5], ряда ди- и трипептидов [6].

Выделение и очистка гипоталамических гормонов осуществляется при помощи чувствительных специфических физиологических тестов. В последние годы в связи с появлением новых высокочувствительных реагентов детекции пептидов имеется возможность с помощью химических тестов выделять их весьма малые количества. Разработаны также методы препаративного выделения, которые позволяют извлекать пептиды, содержащиеся в тканях в очень низких концентрациях.

В настоящее время имеется много экспериментальных данных, свидетельствующих о том, что гипоталамические гормоны не только транспортируют информацию из гипоталамуса в аденогипофиз, но и могут оказывать прямое органотропное действие, минуя аденогипофиз. Впервые это доказано Галюяном и сотр. [7] при воздействии соматостатина на поджелудочную железу. Свидетельством этого является также наличие нейрогормонов, регулирующих сердечную деятельность [8]. По данным Гиймена [9], соматостатин ингибирует секрецию инсулина и глюкагона, согласно другим данным, рилизинг гормоны влияют на метаболизм висцеральных органов [10].

Нашей целью было выделение, очистка и установление структуры гипоталамических пептидов.

Материал и методика. В работе использовали препараты: ДНС-С1 фирмы «Sigma» (США), флуорескамин фирмы «Roche» (Австрия), о-фталдальдегид фирмы «Merck» (США), дипептид Гли-Гли фирмы «Реанал» (Венгрия), тонкослойные пластины силикагеля «Силуфол» (Чехословакия), полиамидные пленки фирмы «Shleicher Shull» (ФРГ), карбоксипептидаза А фирмы «Sigma» (США), очищенная по методу, описанному в работе Гирса [11]. Измерение интенсивности флуоресценции проводили на спектрофлуориметре «Farrand» (США).

Выделение пептидов. 600 г гипоталамической ткани крупного рогатого скота гомогенизировали в 2 л 1% раствора уксусной кислоты при помощи стеклянного гомогенизатора в течение 5 мин при 4°. Гомогенат центрифугировали 30 мин при 10000 г, надосадочную жидкость собирали и сушили лиофильно. Полученный порошок растворяли в 100 мл 1% раствора уксусной кислоты, центрифугировали 30 мин при 10000 г, к надосадочной жидкости добавляли 2 объема этанола, оставляли на ночь при 4°, снова центрифугировали, после чего к надосадочной жидкости добавляли 5-кратный объем хлороформа. После расслоения водную фазу собирали и сушили лиофильно.

На первом этапе для разделения пептидов мы использовали ионообменную хроматографию на колонке. 1,5 г лиофилизованного порошка растворяли в 20 мл воды, рН раствора доводили до 3,5 добавлением ледяной уксусной кислоты и наносили на колонку катионообменного сефадекса SP-C-25 (3,5×100 см), уравновешенную 0,1 М ацетатпиридининовым буфером рН 3,5. Элюцию проводили последовательно градиентами буферов:

0,1 М ацетатпиридининовый буфер рН 3,5—0,3 М ацетатпиридининовый буфер рН 3,5.
0,3 М ацетатпиридининовый буфер рН 3,5—0,3 М ацетатпиридининовый буфер рН 5,2.
0,3 М ацетатпиридининовый буфер рН 5,2—2,0 М ацетатпиридининовый буфер рН 5,2.

На колонку подавали по 2 л каждого из градиентов. Элюцию проводили со скоростью 70 мл/час. В элюатах определяли нингидринположительные вещества до и после щелочного гидролиза по методу, описанному в работе Мура [12].

Элюат колонки был разделен на 15 зон, каждая из которых была высушена на роторном испарителе. Для полного удаления пиридинацетатной соли сухой остаток повторно растворяли в воде и сушили. Дальнейшее разделение полученных зон велось на колонке сефадекса Г-10 (2×40 см). Элюцию проводили 0,01 М муравьиной кислотой. Элюат собирали в три фракции: 1—40—70, 2—70—100 и 3—100—150 мл. Таким образом, было получено 45 частично очищенных фракций. Далее, каждую из 45 фракций подвергали хроматографии в системе растворителей *n*-бутанол-уксусная кислота-вода 4:1:5 (верхняя фаза). Краевые полоски хроматограмм окрашивали нингидрином, после чего ставили реакцию хлорирования [13] для выявления пептидной связи. Вещества, давшие положительную реакцию с хлором элюировали с бумаги 0,1 М муравьиной кислотой и сушили лиофильно. Дальнейшую очистку пептидов проводили методом высоковольтного электрофореза на бумаге, в 0,8 М ацетатпиридининовом буфере рН 3,5 при 70 в/см в течение часа. Выявление пептидных зон проводили хлорированием. После элюции пептидов с хроматограмм их гомогенность проверяли тонкослойной хроматографией на силикагеле в системе растворителей *n*-бутанол-уксусная кислота-вода 5:2:13. Окрашивание пятен проводили флуорескаминном [14] и реакцией с хлором. При необходимости пептиды доочищали хроматографией на бумаге в системе растворителей *n*-бутанол-уксусная кислота-вода 3:3:1.

Для установления суммарного заряда пептидов проводили высоковольтный электрофорез на бумаге при рН 6,5 (1,5 М пиридинацетатный буфер) при 70 в/см в течение часа. Для оценки количества аминокислотных остатков и полного доказательства пептидной природы веществ определяли возрастание количества аминогрупп при помощи *o*-фталальдегида после щелочного гидролиза [15]. Щелочной гидролиз $\sim 10^{-9}$ моля вещества проводили 2 М NaOH при 90° в течение двух часов. N-концевую аминокислоту и аминокислотный состав пептидов определяли дансильным методом [16], с использованием полиамидных пленок. С-концевую последовательность аминокислот в пептидах определяли при помощи карбоксипептидазы А. Для этого $\sim 10^{-9}$ моля пептида растворяли в 5 мкл фосфатного буфера, рН 7,6, добавляли 1 мкг карбоксипептидазы А в 1 мкл воды и инкубировали при 37°. Из инкубационной смеси через 5, 20 и 60 мин отбирали аликвоты по 1 мкл, сушили и проводили определение отщепившихся С-концевых аминокислот дансильным методом.

Результаты и обсуждение. В табл. 1 приведены физико-химические характеристики выделенных пептидов. В таблицу внесены результаты только для тех, давших положительную реакцию с хлором веществ, в ко-

Таблица 1

Некоторые физико-химические характеристики выделенных пептидов
 Столбцы: 1—код пептида; 2—заряд пептида по данным электрофореза, рН 6,5; 3—
 кратное возрастание количества аминогрупп после щелочного гидролиза; 4—коли-
 чество выделенного пептида наномоль; 5—реакция с нингидрином

1	2	3	4	5	1	2	3	4	5
3	0			—	41	0			—
4	—	3	500	+	42	—			—
5	—	10	500	+	43	0			—
6	+	10	500	+	44	—			—
7	+	20	100	+	45	—			—
8	0	10	200	+	46	—			—
10	0	2	50	+	47	0	5	100	+
11	0			—	48	0	2	50	+
12	0	5	500	+	49	—	3	500	+
13	+	3	100	+	51	0	10	50	+
14	0			—	52	+	2	50	+
15	+	3	500	+	53	0			—
16	+	5	100	+	54	0			—
17	+	5	100	+	55	0			—
18	0			—	56	+	10	50	+
20	+	30	50	+	57	—			—
21	+	10	100	+	58	—			—
22	+	3	100	+	59	—			—
23	+	3	100	+	60	—			—
24	0	5	100	+	61	—			—
25	+	8	50	+	62	0	2	100	+
26	+	3	100	+	64	—			—
28	—			—	65	—			—
29	—	10	100	+	67	—	2	50	+
31	—	3	100	+	69	0	2	100	+
32	—	10	500	+	70	0			—
34	—	2	50	+	71	—	2	50	+
36	0			—	72	—	6	200	+

торых наблюдается возрастание количества аминогрупп после щелочно-го гидролиза. Очевидно, что эти два критерия являются необходимыми условиями для доказательства пептидной природы вещества, и наше утверждение о том, что представленные соединения являются пептидами, базируется в основном на этих двух аргументах. В табл. 1 (столбец 2), приведены результаты определения заряда пептидов по данным электрофореза при рН 6,5. Имеются пептиды с положительным, отрицательным, а также нейтральным зарядами. В столбце 5 представлены результаты реакции пептидов с нингидрином. 23 из 56 пептидов не окрашиваются нингидрином, что свидетельствует об отсутствии свободных аминогрупп в этих соединениях. В столбце 3 приведены результаты определения возрастания количества аминогрупп после щелочного гидролиза с целью выявления пептидов среди выделенных соединений, а также для оценки количества аминокислотных остатков в пептидах. Данные приведены только для нингидринположительных соединений, поскольку нингидринотрицательные пептиды не реагируют с о-фталальдегидом, несмотря на то, что после щелочного гидролиза обнаруживаются свободные аминогруппы. Данные этих определений являются ориентировочными, поскольку в качестве стандарта мы использовали дипептид глицил-

глицин, который не может быть строгим для других пептидов. По тем же соображениям, данные столбца 4, в котором представлены результаты определения количества пептидов (по реакции нативного пептида с о-фталальдегидом) также являются ориентировочными. Из этих результатов видно, что в основном выделены короткие, 3—5-членные пептиды. Количество разных пептидов варьирует и не превышает 500 нм.

Некоторые из выделенных пептидов, полученных в сравнительно большом количестве, были отобраны нами для полного доказательства их пептидной природы и изучения структуры. Были изучены пептиды 4, 12 и 31.

В табл. 2 представлены данные о неполной первичной последовательности этих пептидов. В пептидах 4 и 31 в N-концевом положении идентифицирован остаток глутаминовой кислоты. Наши попытки опре-

Таблица 2

Неполная первичная структура гипоталамических пептидов

Код пептида	Заряд	Структура
4	—	Глу-(Сер, Гли ₀₋₁)-Мет-Гли ₁₋₂
12	0	Гли-Асп-(Сер, Тре, Мет)-Гли-Асп
31	—	Глу-(Сер, Мет)-Гли

делить N-концевую последовательность этих пептидов методом ДНС Эдмана [17] не были успешными: не происходило отщепления N-концевой глутаминовой кислоты. Объяснением этого может быть то, что пептидная связь образована по γ -карбоксылному остатку глутаминовой кислоты, не исключено также, что за глутаминовой кислотой расположено неидентифицируемое дансылным методом соединение. Инкубация пептида 4 с карбоксипептидазой А приводит к высвобождению аминокислот глицина и метионина. В первую очередь, в инкубационной смеси обнаруживаются аминокислоты глицин и только потом метионин. Поскольку в пептиде имеются 2 остатка глицина (данные аминокислотного состава), то нельзя точно определить количество глициновых остатков на С-конце пептида: один или два (такое определение возможно только при наличии данных о константах скорости гидролиза глицина и метионина карбоксипептидазой А). В пептиде 31 на С-конце мы идентифицировали глициновый остаток. В пептиде 12 при изучении N-концевой последовательности выявляются последовательно глутаминовая и аспарагиновая кислоты. На С-конце идентифицирована последовательность глицин—аспарагин. Поскольку пептид имеет нейтральный заряд, то можно заключить, что остатки глутаминовой и аспарагиновой кислот амидированы.

В настоящее время мы изучаем возможную физиологическую роль выделенных пептидов путем определения их органотропного действия.

Институт биохимии

АН АрмССР

Поступило 2.XI 1977 г.

ՀԻՊՈՒԹԱԼԱՄՈՒՍԻ ՈՐՈՇ ՊԵՊՏԻԴՆԵՐԻ ԱՆՋԱՏՈՒՄԸ
ԵՎ ԲՆՈՒԹԱԳՐՈՒՄԸ

Ա. Հ. ՀԱՐՈՒԹՅՈՒՆՅԱՆ, Վ. Բ. ԳԱԼՅԱՅԱՆ, Բ. Ն. ՀԱԿՈԲՅԱՆ,
Ջ. Կ. ԴԵՄԻՐՉՅԱՆ, Ռ. Հ. ԿՈՐԱՊԵՏՅԱՆ, Ա. Ա. ԴԱԼՈՅԱՆ

Գելֆիլտրացիայի, իոնոփոխանակիչ խրոմատոգրաֆիայի և էլեկտրաֆորեզի եղանակներով խոշոր եղջերափոր անատոմների հիպոթալամոսից անջատվել են մի շարք պեպտիդային միացություններ: Հաջողվել է անջատել միատարր պեպտիդներ (3—5 ամինաթթուներից բաղկացած) և ուսումնասիրել վերջիններիս քիմիական կառուցվածքի մի քանի կողմերը:

ISOLATION AND CHARACTERIZATION OF SOME
HYPOTHALAMIC PEPTIDES

A. K. HARUTUNIAN, V. T. GALFAIAN, T. N. HAKOPYAN,
J. A. DEMIRCHIAN, R. H. KARAPETIAN, A. A. GALOYAN

With the help of gel filtration, ion exchange chromatography, paper chromatography and high voltage electrophoresis a number of peptide compounds has been isolated from the cattle hypothalamus.

It is shown that in the main 3—5 member short peptides are obtained. Non-full, primary structure for three peptides has been studied.

Л И Т Е Р А Т У Р А

1. Schally A. V., Arlmura A., Kastln A. J. Science, 779, 341, 1973.
2. Guillemin R. dv. in Metabolic Disorders, 5, 1, 1971.
3. Chang C. D. and Leeman S. E. J. Biol. Chemistry, 245, 4784, 1970.
4. Carraway R. and Leeman S. E. J. Biol. Chemistry, 250, 1907, 1945.
5. Ling N., Burgus R. and Guillemin R. Proc. Nat. Acad. Sci., 73, 3942, 1976.
6. Pisano J. et all. J. Biol. Chemistry, 236, 2, 1961.
7. Галоян А. А., Алексанян Р. А. Биологический журнал Армении, 27, 6, 1974.
8. Галоян А. А. ДАН АрмССР, 34, 109, 1962.
9. Gerich J., Guillemin R. et all. Diabetes, 23, 11, 876, 1974.
10. Галоян А. А., Карапетян Р. О. ДАН АрмССР, 59, 3, 1974.
11. Hirs C. H. W., Moore S., Stein W. H. J. Biol. Chemistry, 235, 633, 1960.
12. Moore S., Stein W. H. J. Biol. Chemistry, 211, 907, 1954.
13. Rydon H. N. and Smith P. W. G. Nature, 169, 922, 1952.
14. Vandekerchove J. and Montagu M. V. Eur. J. Biochemistry, 44, 279, 1974.
15. Акопян Т. Н., Арутюнян А. А., Оганесян А. И., Галоян А. А. Биологический журнал Армении, 30, 11, 1977.
16. Арутюнян А. А., Северин Е. С. и Варшавский Я. М. Биохимия, 40, 878, 1975.
17. Gray W. R. and Hurtlely B. S. Biochem. J. 89, 379, 1963.

АКТИВНОСТЬ ЦИТОПЛАЗМАТИЧЕСКОЙ И МИТОХОНДРИАЛЬНОЙ ГЛИЦЕРОФOSFATДЕГИДРОГЕНАЗ В МОЗГЕ ПРИ ЕСТЕСТВЕННЫХ ФИЗИОЛОГИЧЕСКИХ ВОЗДЕЙСТВИЯХ

Г. С. ХАЧАТРЯН, А. А. АКОПЯН

Изучена возможная роль глицерофосфатного челночного механизма в мозговой ткани при различных функциональных состояниях ЦНС. Возбуждение, вызванное на фоне натурального пищевого рефлекса, значительно повышает активность митохондриальной ФАД-зависимой и цитоплазматической НАД-зависимой глицерофосфатдегидрогеназ. При торможении активность указанных ферментов достоверно снижается. Эта тенденция отмечается и в отношении НАД-зависимой митохондриальной глицерофосфатдегидрогеназы, но менее выражена. Предполагается возможность функционирования и активации глицерофосфатного челнока в мозге в зависимости от его функционального состояния.

Высокая функциональная активность головного мозга находится в тесной зависимости от его энергетического обмена. Рефлекторная перестройка функционального состояния нервной системы, базирующаяся на мобилизации различных гормонов, нейротрансмиттеров и внутриклеточных медиаторов информации, в свою очередь может контролировать метаболические пути, ведущие к продукции энергии. Несмотря на наличие многочисленных исследований в области изучения энергетического обмена мозга [1—7 и др.], многие стыкующие реакции метаболических путей, протекающие в различных субклеточных частицах нервных клеток, изучены недостаточно. В настоящее время особое значение приобретает изучение механизмов, обеспечивающих перенос восстановительных эквивалентов из цитоплазмы в митохондриальную окислительную цепь и наоборот. В настоящей работе ставится задача изучить активность цитоплазматической НАД-зависимой глицерофосфатдегидрогеназы (глицерол-3-фосфат): НАД-оксидоредуктаза (1.1.1.8) и митохондриальной флавинзависимой глицерофосфатдегидрогеназы (1.1.99.5) в мозге при его различных функциональных состояниях.

Материал и методика. Опыты ставили на белых крысах-самцах весом 130—150 г. Функциональные состояния мозга вырабатывали условнорефлекторным методом [5]. В нужный момент функциональной активности мозга (пищевое, условнорефлекторное пищевое возбуждение и условнорефлекторное пищевое торможение) крыс замораживали. Последующие операции проводили в холодильной комнате при $\pm 2^\circ$. Глицерофосфатдегидрогеназу выделяли по методу Фонда и Левина [8]. Мозговую ткань, предварительно очищенную от крупных сосудов и оболочек, гомогенизировали в двукратном объеме 0,1 М фосфатного буфера (рН 7,2) в гомогенизаторе Поттера-Эльвегейма в течение 60 сек.

Используемые нами буферные растворы содержали 1 мМ ЭДТА и 5 мМ 2-меркаптоэтапола. Полученный гомогенат помешивали в течение часа, затем центрифугировали при 10000g, 0°C, в течение 30 мин на центрифуге Janetzki K-24. Осадок ресуспендировали в 1 объеме того же буфера и снова центрифугировали при 10000g, 30 мин, 0°C. Собранную надосадочную жидкость после двух центрифугаций фракционировали трижды сульфатом аммония (30, 40, 60% насыщения), затем осадок растворяли в минимальном количестве 5 мМ фосфатного буфера (рН 7,2) и диализировали в трехкратном объеме того же буфера. Диализированную жидкость центрифугировали при 20000g, 0°C, в течение 30 мин на центрифуге Spinco L2 65K. Полученную надосадочную жидкость использовали для фракционирования на колонке с ДЭАЭ-целлюлозой. На промытую колонку размером 15×50 мм и уравновешенную 5 мМ фосфатным буфером (рН 7,2) наносили пробу, колонку промывали 50 мл 0,2 М фосфатного буфера (рН 7,2), глицерофосфатдегидрогеназу элюировали линейной градиентной элюцией (100 мл 5 мМ фосфатного буфера, рН 7,2, и равный объем 0,2 М фосфатного буфера, рН 6,6 с 0,2 М NaCl). Изучаемый фермент выходил в 25—27 фракциях со скоростью 0,5 мл/мин (объем фракций—3,5 мл). Собранный элюат приводили к 60% насыщению с помощью насыщенного раствора сульфата аммония, приготовленного на 0,1 М фосфатном буфере (рН 7,2). Полученный после центрифугирования осадок растворяли в минимальном количестве 0,1 М фосфатного буфера (рН 7,2) и наносили на колонку размером 40×15 мм, заполненную сефадексом G-100. Глицерофосфатдегидрогеназу элюировали 0,1 М фосфатным буфером (рН 7,2). Фермент выходил в первых двух фракциях (объем фракции—3,0 мл).

Активность очищенного фермента определяли по методу Виланда [9] на спектрометре-202 при λ 340 м μ . Инкубационная смесь состояла из 0,4 мл глицерофосфатдегидрогеназы, полученной из мозга крыс, 0,4 мМ 1 мМ НАД, 0,4 мл, 0,2 мМ глицерофосфата и 1,8 мл глицингидразинового буфера (рН 9,8). Общий объем реакционной смеси составлял 3 мл. Удельную активность глицерофосфатадегидрогеназы выражали количеством восстановленного НАД в μ М/мг белка в мин при 25°C в глицингидразиновом буфере (рН 9,8). Митохондриальную глицерофосфатдегидрогеназу из мозга выделяли по методу Салаха и Бедарца [10]. Ткань гомогенизировали в двукратном объеме охлажденной при 2°C 0,25 М сахарозы, рН которой доводили до 7,6 1 М раствором K_2HPO_4 , затем к гомогенату добавляли тот же раствор сахарозы из расчета 9 мл на г ткани и центрифугировали при 1500g в течение 12 мин при 0°C. Надосадочную жидкость пропускали через марлю и центрифугировали при 20000g и 0°C в течение 20 мин на ультрацентрифуге Spinco L2 65K. Полученный осадок (зерна) промывали в половинном объеме MST буфера (MST буфер—0,23 М маннитол, 0,07 М сахароза и 0,02 М трис, рН 7,4) и центрифугировали при 2000 g и 0°C в течение 20 мин. Зерна ресуспендировали в 25 мл и 0,75 М сахарозы, 10 мМ трис (рН 7,8) и центрифугировали при 37000 g, в течение 20 мин. Полученные митохондрии растворяли в 1 мл MST буфера и определяли активность фермента.

Учитывая, что глицерофосфатдегидрогеназа в митохондриях в основном является ФАД-зависимой дегидрогеназой и нет данных, указывающих на отсутствие НАД-зависимой дегидрогеназы в них, мы использовали вышеописанный метод Виланда [9] для определения активности НАД-зависимой митохондриальной глицерофосфатдегидрогеназы при λ -340 м μ и ввели некоторые видоизменения в этот метод с целью определения активности того же фермента в присутствии ФАД. Для определения активности ФАД-зависимой глицерофосфатдегидрогеназы собирали систему, состоящую из 0,01 мл глицерофосфатдегидрогеназы, полученной из митохондрий мозга крыс, 0,4 мл 0,2 мМ ФАД, 0,4 мл 0,2 мМ глицерофосфата и 2,19 мл фосфатного буфера (рН 7,5). Удельную активность ФАД-зависимой глицерофосфатдегидрогеназы выражали количеством восстановленного ФАД в μ М на мг белка/мин при 25°C в фосфатном буфере (рН 7,5), а НАД-зависимой — количеством восстановленного НАД в μ М на мг белка/мин при 25°C в глицингидразиновом буфере (рН 9,8). Содержание ФАДН₂ определяли дифференциальным спектрофотометрированием при длине волн 260, 350—360 и 465—475 м μ [11, 12]. ФАД определяли также флуорометрическим анализом по комбинированному методу Барча [13], основанному на увеличении флуоресценции при превращении ФАД в ФМН.

Результаты и обсуждение. Проведенная очистка значительно повышает активность цитоплазматической глицерофосфатдегидрогеназы (табл. 1).

Т а б л и ц а 1
Этапы очистки и удельная активность глицерофосфатдегидрогеназы из мозга крыс, μM НАДН₂/мг белка/мин

Гомогенат	0,01
60% аммоний сульфатный осадок	0,04
Объединенные ДЭАЭ-элюаты	0,10
G — 100 гельфилтрация	0,40

В табл. 1 приведены этапы очистки цитоплазматической глицерофосфатдегидрогеназы и величины удельной активности на различных этапах очистки (данные одного из контрольных опытов). Как показывают данные таблицы, в результате очистки активность глицерофосфатдегидрогеназы повышается в 40 раз.

Результаты изучения активности цитоплазматической и митохондриальной дегидрогеназ в мозге при его различных функциональных состояниях, выработанных на базе естественных физиологических воздействий, приведены в табл. 2—4.

Т а б л и ц а 2
Активность цитоплазматической глицерофосфатдегидрогеназы в мозге, μM НАДН₂/мг белка/мин

	Контроль	Пищевое возбуждение	Условнорефлекторное пищевое возбуждение	Условнорефлекторное пищевое торможение
$M \pm m$	$0,40 \pm 0,0035$	$0,61 \pm 0,006$	$0,52 \pm 0,02$	$0,21 \pm 0,015$
n	8	8	8	8
σ	$\pm 0,01$	$\pm 0,019$	$\pm 0,055$	$\pm 0,043$
p		$< 0,001$	$< 0,02$	$< 0,01$

По данным 8-ми опытов, у крыс контрольной группы (табл. 2) активность цитоплазматической глицерофосфатдегидрогеназы составляет $0,40 \pm 0,0035 \mu\text{M}$ НАДН₂/мг белка/мин. На этом фоне возбуждение ЦНС (пищевое, условнорефлекторное пищевое возбуждение) вызывает достоверное повышение активности цитоплазматической глицерофосфатдегидрогеназы. Причем повышение активности фермента при условнорефлекторном возбуждении менее выражено по сравнению с данными при пищевом возбуждении. По-видимому, при приеме пищи (пищевое возбуждение) значительно интенсивнее действует глицерофосфатный челночный механизм. В пользу этого предположения, помимо повышенной активности фермента, говорят увеличение артериовенозной разницы в содержании глюкозы и пирувата, усиление поглощения кислорода и увеличение скорости мозгового кровотока при пищевом возбуждении, выявленные в исследованиях Хачатряна [5]. Таким образом, воз-

буждение ЦНС, вызванное естественным физиологическим раздражителем, индуцирует повышение активности глицерофосфатдегидрогеназы в мозге, подобно тому как это имело место с активностью двух других важных ферментов гликолитического пути: фруктозодифосфатальдозазы и глицеральдегидфосфатдегидрогеназы [14]. Как показывают данные табл. 2, при торможении условного пищевого рефлекса наблюдается значительное (почти вдвое) понижение активности цитоплазматической глицерофосфатдегидрогеназы в мозге. Установив достоверное повышение активности цитоплазматической глицерофосфатдегидрогеназы в мозге при возбуждении и значительное понижение при торможении, мы перешли к изучению сдвигов в активности митохондриальной глицерофосфатдегидрогеназы при тех же функциональных состояниях.

Т а б л и ц а 3

Активность НАД-зависимой митохондриальной глицерофосфатдегидрогеназы в мозге, μM НАДН₂/мг белка/мин

	Контроль	Пищевое возбуждение	Условнорефлекторное пищевое возбуждение	Условнорефлекторное пищевое торможение
M \pm m	2,16 \pm 0,22	3,51 \pm 0,15	3,44 \pm 0,23	1,91 \pm 0,28
n	9	9	12	9
σ	\pm 0,66	\pm 0,46	\pm 0,80	\pm 0,85
p		<0,001	<0,01	>0,05

Т а б л и ц а 4

Активность ФАД-зависимой митохондриальной глицерофосфатдегидрогеназы в мозге, μM ФАДН₂/мг белка/мин

	Контроль	Пищевое возбуждение	Условнорефлекторное пищевое возбуждение	Условнорефлекторное пищевое торможение
M \pm m	3,18 \pm 0,135	7,15 \pm 0,23	5,68 \pm 0,13	2,41 \pm 0,17
n	9	9	12	9
σ	\pm 0,468	\pm 0,69	\pm 0,45	\pm 0,53
p		<0,001	<0,001	>0,05

Как видно из данных табл. 3 и 4, активность митохондриальной НАД-зависимой глицерофосфатдегидрогеназы в мозге у контрольной группы крыс, по средним данным, составляет 2,16 \pm 0,22 μM НАДН₂ на мг белка/мин, в то время как активность ФАД-зависимой глицерофосфатдегидрогеназы оказывается более высокой. При пищевом и условнорефлекторном пищевом возбуждении наблюдается значительное повышение активности как НАД-, так и ФАД-зависимых митохондриальных глицерофосфатдегидрогеназ в мозге. Причем активность ФАД-зависимой глицерофосфатдегидрогеназы митохондриальной фракции увеличивается более чем в два раза.

На фоне выявленной закономерности значительного повышения активности ферментов при возбуждении мы проследили за изменением активности глицерофосфатдегидрогеназ при торможении. Анализ полученных данных показывает, что условнорефлекторное пищевое торможение вызывает понижение активности как НАД-, так и ФАД-зависимых глицерофосфатдегидрогеназ митохондриальной фракции.

Изучение физико-химических параметров этих ферментов важно, так как они имеют особое значение в биохимических и биосинтетических процессах, действуя в точке метаболизма, которая связывает гликолиз с фосфолипидным и триглицеридным обменом [15, 16]. Более того, они осуществляют передачу восстановительных эквивалентов от внешнемитохондриальных молекул НАДН к внутримитохондриальной цепи переноса электронов. Так как молекулы цитоплазматического НАДН не проникают через митохондриальную мембрану в дыхательную цепь переноса электронов, то это осуществляется с помощью челночных механизмов [17, 18], одному из которых посвящена настоящая работа.

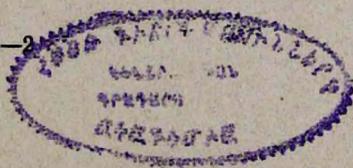
Образованный в глицеральдегидфосфатдегидрогеназной реакции цитоплазматический НАДН, одним из основных источников которого является гликолиз, реагирует с цитоплазматическим диоксиацетонфосфатом при участии цитоплазматической НАД-зависимой глицерофосфатдегидрогеназы с получением глицеролфосфата, который легко проникает внутрь митохондрий, где он вновь окисляется до диоксиацетона с помощью флавинзависимой глицерофосфатдегидрогеназы. Глицерофосфатный челночный механизм является односторонним, он обеспечивает перенос электронов только внутрь митохондрий [19].

Существование различных форм цитоплазматических глицерофосфатдегидрогеназ у цыпленка и их различное тканевое распределение впервые установил Роуслин [20]. Цитоплазматическая глицерофосфатдегидрогеназа была изолирована в гомогенной форме и дана структурная характеристика его из скелетной мышцы кролика [21—23], цыпленка [24], крысы [8], из печени человека [25] и кролика [26]. Гривилли [27] отмечает, что мозг содержит высокоактивную митохондриальную глицерофосфатдегидрогеназу и низкоактивную НАД-зависимую дегидрогеназу, присутствующую в клеточном соке. Уайтом [24] и Роуслином [30] отмечены различные физиологические функции у двух типов НАД-зависимых глицерофосфатдегидрогеназ, из грудной мышцы и печени цыпленка. Фермент из мышцы может действовать совместно с мышечным типом лактатдегидрогеназы в регенерировании НАД во время анаэробного гликолиза. Результатом действия глицерофосфатдегидрогеназы во внутриклеточном транспорте водорода является то, что глицерофосфат накапливается вместе с молочной кислотой как конечным продуктом анаэробного углеводного обмена [28]. Образованный глицерофосфат является предшественником триглицеридов и фосфолипидов. И в этом случае, вероятно, функционирует фермент из печени [24]. Хотя и возможно, что обе функции могут быть совершены одним ферментом, но кажется более

вероятным, что в высших организмах с их разделением функций между различными органами и тканями они принадлежат различным ферментам при независимом генетическом и метаболическом контроле [24]. Эта обменная, ключевая роль особенно интересна, если принять во внимание фактическое отсутствие НАД-зависимой глицерофосфатдегидрогеназы в большом числе опухолевых тканей [28, 29], при наличии в них митохондриального двойника — флавинозависимой глицерофосфатдегидрогеназы. Такое состояние не вызвано присутствием какого-то свободного ингибитора в раковых клетках, так как добавление опухолевого экстракта не тормозит глицерофосфатдегидрогеназу нормальной ткани [30]. По Веберу [31], это объясняется тем, что в раковых клетках обмен идет в направлении биосинтеза белков и нуклеиновых кислот вдали от синтеза запасных углеводов и липидов. При анализе полученных нами данных обращает на себя внимание аналогичная направленность изменения активности цитоплазматической и митохондриальной глицерофосфатдегидрогеназ в мозге как при пищевом, условнорефлекторном пищевом возбуждении, так и условнорефлекторном пищевом торможении.

В литературе нет единого мнения, указывающего на значение глицерофосфатного челнока в мозговой ткани: предположению Балаша [6] о том, что этот челнок не может иметь решающего значения во внутриклеточном переносе восстановительных потенциалов, противопоставляется мнение Шварка [32] о важной роли глицерофосфатдегидрогеназы в синтезе фосфолипидов и внутриклеточном транспорте ионов водорода. Далее автор [32] указывает, что важность заключается в том, что глицерофосфатный челнок снабжает нервную ткань глицеролфосфатом, необходимым для липидов миелина.

Полученные нами данные и данные литературы дают основание предполагать возможность активирования глицерофосфатного челнока в мозге в зависимости от его функционального состояния. При возбуждении мозга, индуцированном пищевым и условнорефлекторным пищевым раздражением в условиях усиленного поглощения глюкозы и кислорода, нарастания количества пирувата и лактата [5], значительного повышения гексокиназной активности [33], а также активности фруктозоdifосфатальдолазы и глицеральдегидфосфатдегидрогеназы [14], ключевых ферментов цикла Кребса [34] и пентозного цикла [5], создаются необходимые условия для действия ферментов глицерофосфатного челнока. При этом происходит значительное повышение активности цитоплазматической и митохондриальной глицерофосфатдегидрогеназ. Эти результаты подтверждаются также данными других авторов, в работах которых отмечается индукция цитоплазматической и митохондриальной дегидрогеназ гормональными или алиментарными факторами либо обоеми вместе [35]. Так, ускорение процесса дыхания при гипертиреозе объясняется тем, что увеличенное количество тироксина вызывает значительное усиление синтеза митохондриальной глицерофосфатдегидрогеназы [19]. Известно, что ресинтез богатых энергией фосфорных соединений в ткани мозга происходит не только под влиянием реакций окислительно-



го фосфорилирования, но и в результате гликолитических процессов, интенсивность которых возрастает в зависимости от функционального состояния мозга [36], в особенности при гипоксии и длительном возбуждении нервных клеток.

Все изложенное позволяет сделать заключение о наличии и эффективном функционировании глицерофосфатного челночного механизма в мозге в условиях возбуждения и торможения ЦНС, вызванных естественными физиологическими раздражителями. Глицерофосфатный челночный механизм может связывать различные пути обмена глюкозы участвовать в обеспечении биоэнергетических и биосинтетических потребностей мозга при различных функциональных состояниях ЦНС.

Ереванский государственный медицинский институт,
НИЛ биосинтетических реакций мозга

Поступило 13.I 1978

**ՅԻՏՈՊԼԱԶՄԱՏԻԿ ԵՎ ՄԻՏՈՔՈՆՎՐԻԱԿ α -ԳԼԻՑԵՐՈՖՈՍՖԱՏ-
ԴԵՀԻԴՐԱԳԵՆԱԶԱՆԵՐԻ ԱԿՏԻՎՈՒԹՅՈՒՆԸ ՈՒՂԵՂՈՒՄ
ԲՆԱԿԱՆ ՖԻԶԻՈԼՈԳԻԱԿԱՆ ՆԵՐԳՈՐԾՈՒԹՅՈՒՆՆԵՐԻ ԺԱՄԱՆԱԿ**

Գ. Ս. ԽԱՉԱՏՐՅԱՆ, Ա. Ա. ԱԿՈՊՅԱՆ

Հետազոտվել է գլիցերոֆոսֆատային մակուկային մեխանիզմի հնարավոր դերը ուղեղային հյուսվածքում՝ գլխուղեղի տարբեր ֆունկցիոնալ վիճակներում: Բնական անողային ոեֆլեքսի ֆոնի վրա առաջացած դրդումը զգալիորեն բարձրացնում է միտոքոնդրիալ ՖԱԴ-յուրահատուկ և ցիտոպլազմատիկ ՆԱԴ-յուրահատուկ գլիցերոֆոսֆատդեհիդրոգենազաների ակտիվությունը: Արգելադրման ժամանակ նշված ֆերմենտների ակտիվությունը ստույգ նվազում է:

Նշված միտոքոնդր, սակայն ավելի թույլ արտահայտված էֆեկտով, նկատվում է նաև միտոքոնդրիալ ՆԱԴ-յուրահատուկ գլիցերոֆոսֆատդեհիդրոգենազայի նկատմամբ: Ստացված տվյալները հիմք են տալիս ենթադրելու գլիցերոֆոսֆատային մակուկային մեխանիզմի առկայությունը և նրա գործունեության ակտիվացումը ուղեղում՝ կախված նրա ֆունկցիոնալ վիճակներից:

**THE ACTIVITY OF CYTOPLASMIC AND MITOCHONDRIAL
 α -GLYCEROPHOSPHATE DEHYDROGENASE IN BRAIN UNDER
NATURAL PHYSIOLOGICAL ACTION**

G. S. KHACHATRIAN, A. A. AKOPIAN

A possible role of the glycerophosphate shuttle mechanism in the brain tissue at different functional states of CNS was studied. Excitation resulting from the natural alimentary reflex increases the activity of mitochondrial FAD-dependent and cytoplasmatic NAD-dependent glycerophosphate dehydrogenase considerably. At inhibition the activity of the mentioned enzymes decreases with certainty. This tendency is noticeable

with reference to NAD-dependent mitochondrial glycerophosphate dehydrogenase as well, but with less effect only. The data obtained suggest the possibility of functioning and activation of glycerophosphate shuttle in the brain depending on its functional state.

Л И Т Е Р А Т У Р А

1. Палладин А. В. В сб. Биохимия нервной системы, Киев, 7, 1954.
2. Himwich H. E. Brain Metabolism and Cerebral Disorders, Williams Wilkins Co, Baltimore, 1951.
3. Бунятыян Г. Х. Вопросы биохимии нервной системы, 2, 93, 1957.
4. Mc Ilwain H. Biochemistry and the Central Nervous System, London, 1959.
5. Хачатрян Г. С. Биохимия головного мозга, Ереван, 1967.
6. Balazs R. Handbook of Neurochemistry, 3, 1, 1970.
7. Гаевская М. С. Биохимия мозга при умирания и оживлении организма, М., 1963.
8. Fondy T. P., Levin L. et al. J. Biol. Chem., 243, 11, 3148, 1968.
9. Witeland O., Suyter M. Biochem. Z. Bd., 329, 320, 1957.
10. Salach J. I., Bednarz J. Arch. Biochem. and Biophys., 157, 1, 133—144, 1973.
11. Джорджеску П., Пэунеску Е. Биохимические методы диагноза и исследования, Бухарест, 1963.
12. Hayaishi O. Lactose Dehydrogenase, in Methods in Enzyme, IX, AP, 73—78, New York, 1966.
13. Burch H. B. In Methods in Enzyme, 111, 960—962, AP, New York, 1957.
14. Хачатрян Г. С., Акопян А. А. Биологический журнал Армении, 28, 2, 1975.
15. Fondy T. P., Herwig K. J. et al. Arch. Biochem. and Biophys., 145, 2, 583—590 1971.
16. Kennedy E. P. Fed. Proc., 20, 934—940, 1961.
17. Klingenberg M. Am. Rev. Biochem. 29, 669, 1960.
18. Sacktor B. et al. Arch. Biochem. and Biophys., 80, 68, 1959.
19. Ленинджер А. Биохимия. М., 1974.
20. Rouslin W. Fed. Proc., 26, 557, 1967.
21. Baranowski T. J. Biol. Chem., 180, 535, 1949.
22. Fondy T. P., Ross C. R. et al. J. Biol. Chem., 244, 1631, 1969.
23. Van Eys J., Judd J. et al. Biochemistry, 3, 1755, 1964.
24. White H. B., Kaplan N. O. J. Biol. Chem., 244, 21, 6031, 1969.
25. Lehmann F. G. et al. Hoppe Seyler's Z. Physiol. Chem., 349, 1777, 1968.
26. Otto J., Hoppe Seyler's Z. Physiol. Chem., 348, 1240, 1967.
27. Greville G. D. In Neurochemistry (K. A. C. Elliott, I. H. Page and J. H. Quastel, eds.) 2nd ed., 238—275, Charles C. Thomas, Springfield, Illinois, 1962.
28. Ciaccio E. I., Keller G. E. et al. Biochim. et Biophys. Acta, 37, 191, 1960.
29. Boxer G. E., Devlin T. M. Science, 134, 3489, 1495—1501, 1961.
30. Changas G. S., Fondy T. P. Biochemistry, 10, 3204—3210, 1971.
31. Weber G., Lea M. A. In Methods in Cancer Research, 11, 523—578, AP, New York 1967.
32. Schwarc W. J. Pharm. and Pharmacol. 22, 6, 458—460, 1970.
33. Бунятыян Г. Х., Хачатрян Г. С. Вопросы биохимии, Ереван, 101, 1960.
34. Хачатрян Г. С., Оганесян М. Х. Биологический журнал Армении, 27, 2, 1974.
35. Ross Ch. R. et al. Arch. Biochem. and Biophys., 145, 2, 5, 1971.
36. Промыслов М. Ш., Тигранян Р. А. Вопросы биохимии мозга, 3, 163, 1967.

К ВОПРОСУ О МЕХАНИЗМЕ ДЕЙСТВИЯ ГАНГЛИОЗИДОВ НА АКТИВНОСТЬ $\text{Na}^+ - \text{K}^+$ -АТФазы МИКРОСОМ МОЗГА

Э. Е. МХЕЯН, О. П. СОЦКИЙ, С. Э. АКОПОВ

Приводятся данные о действии человеческих ганглиозидов на K^+ -фосфатазу микросом мозга белых крыс, ингибирующих активность фермента. Ионы K^+ снимают ингибирующий эффект ганглиозидов на $\text{Na}^+ - \text{K}^+$ -АТФазу и K^+ -фосфатазу. Поскольку $\text{Na}^+ - \text{K}^+$ -АТФаза является аллостерическим ферментом, то предполагается, что ганглиозиды как аллостерические ингибиторы уменьшают его сродство к ионам K^+ , это и обуславливает обнаруженный эффект. Вычисление коэффициента Хилла подтверждает данное предположение.

Выяснение физиологической роли ганглиозидов, являющихся специфическими липидами мембран нервных клеток, представляет одну из основных задач современной нейрохимии. Согласно современным данным, ганглиозиды, являясь полианионами, играют важнейшую роль в функционировании биологических мембран [1], а именно, связывая ионы K^+ , Na^+ , Ca^{2+} , участвуют в переносе их через мембраны [2, 3]. Не исключено, что они влияют на процессы транспорта ионов через $\text{Na}^+ - \text{K}^+$ -активируемую Mg^{2+} -зависимую АТФазу (КФ 3614), особенно, если учесть корреляцию между активностью $\text{Na}^+ - \text{K}^+$ -АТФазы и содержанием ганглиозидов в различных органах [4]. Нашими предыдущими исследованиями было показано, что ганглиозиды в различных концентрациях оказывают двоякое действие на $\text{Na}^+ - \text{K}^+$ -АТФазу микросом мозга *in vitro*: в малых концентрациях они активируют транспортную АТФазу, а в больших ингибируют [5].

С целью выяснения некоторых сторон механизма влияния ганглиозидов на $\text{Na}^+ - \text{K}^+$ -АТФазу нами было изучено влияние экзогенных ганглиозидов на K^+ -фосфатазу, ответственную за третий этап переноса ионов через биологические мембраны [6].

Материал и методика. $\text{Na}^+ - \text{K}^+$ -АТФаза выделялась из больших полушарий мозга белых крыс. Ферментный препарат получали по методу Цильмера и Гарве [7]. Крыс забивали докапитацией, мозг отмывали от крови и гомогенизировали в гомогенизаторе Поттера в растворе (10 мл на 1 г ткани), содержащем 0,25 М сахарозу, 1 мМ ЭДТА, 1 мМ трис-НСI и 0,2% дезоксихолата натрия (рН 6,83). Гомогенат центрифугировали при 30000×g в течение 1 часа. Надосадочную жидкость разводили в 7—10 раз бидистиллированной водой и центрифугировали в ультрацентрифуге VAC-60Z в течение 1 часа при 125000×g. Осадок ресуспендировали в указанном растворе, но без дезоксихолата и использовали как ферментный препарат.

Манипуляции выделения фермента производили при температуре 0—3°. Его активность определяли по приросту неорганического фосфата в реакционной смеси, содержащей 30 мМ трис-НСl, 5 мМ MgCl₂, 100 мМ NaCl, 20 мМ KCl, 3 мМ АТФ-трис (рН 7,4); в контрольные пробы добавляли 0,2 мМ оубаина. Реакцию начинали с добавления ферментного препарата (20—50 мкг белка). Объем проб составлял 2 мл. Инкубацию проводили в течение 20 мин при 37°. Фосфор определяли по Якушевой и Орловой [8].

Активность K⁺-фосфатазы определяли в 1,5 мл смеси, содержащей 30 мМ трис-НСl, 5 мМ MgCl₂, 5 мМ KCl, 3 мМ п-нитрофенилфосфата (рН 7,4). Контролем служили пробы, не содержащие KCl. Реакцию начинали с добавления ферментного препарата (20—40 мкг белка). Смесь инкубировали при 37° в течение 10 мин.

Ганглиозиды выделяли из серого вещества людей, погибших от несчастных случаев, по методу Богоча в модификации нашей кафедры [9]. Белок определяли по Лоури [10]. Полученные данные статистически обработаны с применением критерия Фишера-Стьюдента.

Результаты и обсуждение. Полученные данные, приведенные в таблице, свидетельствуют о том, что ганглиозиды в концентрациях 10⁻⁵, 2·10⁻⁵, 6·10⁻⁵, 10⁻⁴, 2·10⁻³ и 3·10⁻³ мМ ингибируют активность K⁺-фосфатазы соответственно на 9, 26, 49, 60, 78 и 80% (таблица).

Т а б л и ц а
Влияние ганглиозидов в различных концентрациях
на K⁺-фосфатазу in vitro, % от контроля

Концентрация ганглиозидов, мМ	Контроль, %	Опыт, %	P
10 ⁻⁵	100	91±1,5	<0,05
2·10 ⁻⁵	100	74±1,83	<0,05
6·10 ⁻⁵	100	51±0,61	<0,01
10 ⁻⁴	100	40±0,95	<0,05
2·10 ⁻³	100	22±0,98	<0,05
3·10 ⁻³	100	20±1,1	<0,05

В каждой графе—результаты обработки данных 8-ми опытов.

При этом обнаружилось, что ингибирующий эффект их зависит от времени контакта с ферментным белком. Максимум ингибирования отмечался на тридцатой минуте преинкубации ганглиозидов с белком при 37° (рис. 1).

Из полученных данных следует, что в отличие от Na⁺—K⁺-АТФазы ганглиозиды в малых концентрациях не оказывают активирующего влияния на K⁺-фосфатазу, а проявляют слабый ингибирующий эффект. Большие концентрации ингибируют K⁺-фосфатазу в значительной степени.

Эти данные дают основание предполагать, что ингибирующий эффект ганглиозидов на Na⁺—K⁺-АТФазу связан с их влиянием на фосфатазную реакцию, являющуюся третьей реакцией рабочего цикла фермента. Активирующий эффект малых концентраций, по-видимому, связан с их воздействием на первые этапы транспортного цикла.

В дальнейшем для уточнения механизма влияния ганглиозидов на $\text{Na}^+ - \text{K}^+ - \text{ATФазу}$ и K^+ -фосфатазу нами изучалась конкуренция ганглиозидов с активирующими ионами Na и K . Результаты опытов представлены в виде графиков Гантера и Даунса [11] (рис. 2).

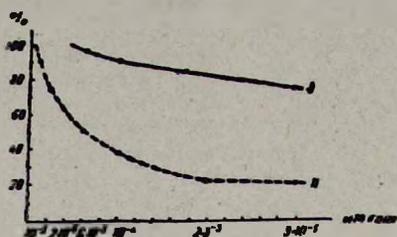


Рис. 1. Ингибирующий эффект ганглиозидов на активность K^+ -фосфатазы в зависимости от концентрации, I — без преинкубации; II — с преинкубацией в течение 30 мин при 37° .

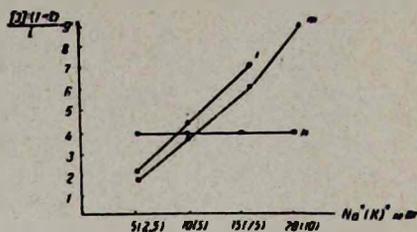


Рис. 2. Конкуренция между ганглиозидами и Na^+ или K^+ за $\text{Na}^+ - \text{K}^+ - \text{ATФазу}$ и K^+ -фосфатазу. I — конкуренция с K^+ ($\text{Na}^+ - \text{K}^+ - \text{ATФазу}$); II — конкуренция с Na^+ ($\text{Na}^+ - \text{K}^+ - \text{ATФазу}$); III — конкуренция с K^+ (K^+ -фосфатаза).

Результаты опытов показали, что ганглиозиды конкурируют с ионами K за $\text{Na}^+ - \text{K}^+ - \text{ATФазу}$ и K^+ -НФФ. Значение $\frac{[J](1-i)}{1}$ (где $[J]$ — концентрация ингибиторов, i — часть активности фермента, которая угнеталась при данной концентрации катиона) возрастало с ростом концентрации K^+ в среде (рис. 2, кр. I и III). Конкуренции же между ганглиозидами и ионами Na в наших экспериментах не обнаружено. Значение $\frac{[J](1-i)}{1}$ не возрастало с ростом концентрации Na^+ в среде (рис. 2, кр. II).

Таким образом, ионы K снимают ингибирующее действие ганглиозидов на $\text{Na}^+ - \text{K}^+ - \text{ATФазу}$, в то время как ионы Na не оказывают такого влияния. Поскольку $\text{Na}^+ - \text{K}^+ - \text{ATФазу}$ является аллостерическим ферментом [13, 12], можно предположить, что ганглиозиды как аллостерические ингибиторы в результате конформационных изменений уменьшают его сродство к K^+ , это и обуславливает обнаруженный эффект. Но так как, являясь в то же время полианионами, они способны связывать K^+ , не исключено, что в основе ингибирующего эффекта их лежит уменьшение концентрации активирующих ионов K . Для уточнения этого вопроса нами разностным методом [14] был рассчитан коэффициент Хилла по формуле:

$$\lg \left\{ \frac{\left(\frac{1}{V_0 - V_i} - \frac{1}{V_0 - V_i'} \right)}{\lg x} \right\} / \left(\frac{1}{V_0 - V_i} - \frac{1}{V_0 - V_i'} \right)$$

где V_0 — скорость реакции без ингибитора, V_i, V_i', V_i'' — значения скоростей реакции при концентрациях ингибитора, соответственно равных $J, J/\chi, \chi \cdot J$. Было принято равным 2.

Поскольку коэффициент Хилла оказался больше 1 (1,93), то мы пришли к выводу, что имеем дело с кооперативным процессом, еще раз подтверждающим аллостерическую природу изучаемого фермента.

Ереванский медицинский институт,
кафедра общей и клинической химии

Поступило 25.XI 1977 г.

ՈՒՂԵՂԻ ՄԻԿՐՈՍՈՄՆԵՐԻ $\text{Na}^+ - \text{K}^+$ -ԱՏՖ-ազայի ԱԿՏԻՎՈՒԹՅԱՆ ՎՐԱ ԳԱՆՎԻՈՉԻԴԻՆԵՐԻ ԱԶԴԵՑՈՒԹՅԱՆ ՄԵԽԱՆԻԶՄԻ ՀԱՐՑԻ ՇՈՒՐՋԸ

Է. Ե. ՄԽԵՅԱՆ, Օ. Պ. ՍՈՏՅԻ, Ս. Է. ԱԿՈՊՈՎ

Հորվածում բերված են սովյալներ մարդու գանգլիոզիդների ազդեցության վերաբերյալ՝ ապիտակ առնետների ուղեղի միկրոսոմների K^+ -ֆոսֆատազայի վրա: Գանգլիոզիդների 10^{-5} , $2 \cdot 10^{-5}$, $6 \cdot 10^{-5}$, 10^{-4} , $2 \cdot 10^{-3}$, $3 \cdot 10^{-3}$ մմ կոնցենտրացիաները ընկճում են K^+ -ֆոսֆատազայի ակտիվությունը համապատասխանաբար՝ 9, 26, 49, 60, 78 և 80%-ով: K^+ -իոնները վերացնում են գանգլիոզիդների ընկճող ազդեցությունը $\text{Na}^+ - \text{K}^+$ -ԱՏՖ-ազային և K^+ -ֆոսֆատազայի վրա: Քանի որ $\text{Na}^+ - \text{K}^+$ -ԱՏՖ-ազան ալոստերիկ ֆերմենտ է, ենթադրվում է, որ գանգլիոզիդները իբրև ալոստերիկ ինհիբիտորներ, իջեցնում են ֆերմենտի խնամակցությունը K^+ -ի հանդեպ, որը և պայմանավորում է հայտնաբերված էֆեկտը: Հիլի գործակցի հաշվումը հաստատում է սովյալ ենթադրությունը:

ON THE MECHANISM OF INFLUENCE OF GANGLIOZIDES ON THE ACTIVITY OF $\text{Na}^+ - \text{K}^+$ -ATP-ase OF THE BRAIN MICROSOMES

E. E. MKHEYAN, O. P. SOTSKY, S. E. AKOPOV

The data are brought out in the article on the operation of human gangliozides on K^+ -phosphatase of white rat brain microsomes. The gangliozides in the concentrations of 10^{-5} , $2 \cdot 10^{-5}$, $6 \cdot 10^{-5}$, 10^{-4} , $2 \cdot 10^{-3}$, $3 \cdot 10^{-3}$ mM inhibit the activity of K^+ -phosphatase on 9, 26, 49, 60, 78, 80% accordingly. Ions of K^+ removed the inhibiting effect of gangliozides on $\text{Na}^+ - \text{K}^+$ -ATP-ase in an allosteric enzyme. Then it is supposed, that gangliozides being allosteric inhibitors, reduce the affinity of the K^+ enzyme which stipulates the revealed effect. The calculation of Hill's coefficient proves the given supposition.

Л И Т Е Р А Т У Р А

1. Туманова С. Ю. Успехи современной биологии, 81, 193, 1976.
2. Mc. Ilwain H. Biochem. J., 72, 24, 1961.
3. Woodman R. J., Mc. Ilwain H. Biochem. J., 79, 1, 1961.
4. Бронувицкая Э. Г. Нейрохимия, Ростов, 1976.
5. Мхейн Э. Е., Соцкий О. П., Акопов С. Э. Журн. exper. и клин. мед., 3, 1978

- 6 *Комкова А. И.* Биохимия, 39, 235, 1975.
- 7 *Цильмер М. К., Таряе У. С.* Укр. биохим. журн., 47, 458, 1975.
- 8 *Якушева И. А., Орлова Л. И.* Лаб. дело, 8, 497, 1970.
- 9 *Мхелин Э. Е., Шахбатын Ш. Л.* Вопросы биохимии мозга, 10, 187, Ереван, 1975.
- 10 *Loury O. U., Rosebroregh N. I., Farr A. Z., Rande R. I.* J. Biol. Chem., 193, 265, 1951.
- 11 *Hunter A., Downs G. E.* J. Biol. Chem., 154, 427, 1945.
- 12 *Whittam R., Wheeler K. P.* Ann. Rev. Physiol., 32, 21, 1965.
- 13 *Squires R. F.* Biochem. and Biophys. Res. Commun., 19, 27, 1965.
- 14 *Курганов Б. И.* В. кн. Аллостерическая регуляция действия ферментов. 87, М., 1971.

ЭЛЕКТРОФИЗИОЛОГИЧЕСКИЙ АНАЛИЗ КОРТИКО-ЦЕРЕБЕЛ- ЛЯРНЫХ СВЯЗЕЙ У ОБЕЗЬЯН

Н. Ф. СОФИАДИС

При электрическом раздражении различных точек коры больших полушарий (поля 9, 6, 4, 2, 7 и 17) у обезьян в хронических экспериментах в ростральных отделах коры мозжечка регистрируются вызванные потенциалы, которые лучше выражены при стимуляции моторной (поле 4) и затылочной (поле 17) зон коры. Указанные ответы могли быть зарегистрированы билатерально и в некоторых случаях имели явно короткие скрытые периоды порядка 1—2 мсек. Последнее обстоятельство позволяет предположить существование прямых, моносинаптических связей между корой больших полушарий и мозжечком.

В ряде исследований показан соматотопический принцип связи коры больших полушарий с мозжечком [1—9]. Наиболее детально изучены связи сенсомоторной и моторной коры. Установлено, что эти связи полисинаптические и осуществляются по мосто-, ретикуло- и оливо-мозжечковым путям [4, 10—14]. Имеются морфологические данные, свидетельствующие о прямой связи коры больших полушарий с корой мозжечка [15—17]. Целью проведенного нами исследования явилось электрофизиологическое изучение корково-мозжечковых связей у бодрствующих обезьян методом вызванных потенциалов.

Материал и методика. Работа выполнена на 5 бодрствующих обезьянах (Macaca Mulatta) с хронически вживленными в мозг электродами, изготовленными из нержавеющей стальной проволоки ($d=0,25$ мм), изолированной на всем протяжении за исключением торца. Для изоляции использовались клеи БФ-2 и Э—5% целлуидин.

Электроды вживлялись в мозг по стереотаксическим координатам атласа Снайде-ра и Ли [18], под нембуталовым наркозом (25—30 мг/кг, внутривенно) в 16 различных пунктах коры мозжечка: доли III, IV, V, Simplex и Crus-1. В кору больших полушарий было вживлено по 12 корковых биполярных электродов в лобную (поля 9 и 6), моторную (поле 4), соматосенсорную (поле 2), теменную (поле 7) и затылочную (поле 17) области в оба полушария. Межеlectродное расстояние равнялось 1,5—2 мм. Для раздражения применялись бифазные разнополярные, прямоугольные импульсы длительностью 0,15 мсек и силой 0,35—1,5 мА.

Индифферентный электрод представлял собою 3 стальных винта, ввинченных в череп в теменных и затылочных областях и соединенных между собой серебряной проволокой. Заземление животного осуществлялось с помощью винта, ввинченного в лобную кость.

Биоэлектрические колебания подавались на предусилитель одного из каналов электроэнцефалографа «Галилес». Его выход соединялся с катодным осциллографом С1-8, с экрана которого фотографировались ответы. Как правило, производилась су- перпозиция не менее 40 ответов.

Обезьяны содержались и исследовались в специальных приматологических креслах [19, 20]. Локализация пунктов стимуляции и отведения окончательно определялась при гистологическом исследовании после окончания опытов.

Результаты и обсуждение. Вызванные ответы (ВО) при стимуляции 50 пунктов коры полушарий (поля 9, 6, 4, 2, 7 и 17-билатерально) были зарегистрированы из 16 пунктов коры мозжечка: доли III, IV, V, Simplex и Crus-I. Было исследовано 136 возможных комбинаций пунктов раздражения и отведения для установления афферентных связей коры мозжечка с неокортексом. В 50 случаях (36,7%) такая связь была обнаружена.

При стимуляции поля 9 в коре мозжечка регистрировались $16 \pm 5\%$ ответов, поля 6 — 8 ± 4 , 4 — 26 ± 6 , 2 — 10 ± 4 , 7 — 18 ± 5 и 17 — $22 \pm 6\%$ ответов. Как видно из этих данных, наиболее тесные связи с корой мозжечка имеют поля 4 и 17, слабые — 6 и 2.

Различия в частоте выявления ответов наблюдались при сравнении результатов отведения потенциалов от палео- и неocerebellума ($62 \pm 7\%$ и $38 \pm 7\%$ соответственно, при $P < 0,02$). Вместе с тем в частоте выявления ВО из этих же областей мозжечка на стимуляцию ипси- и контралатерального полушария неокортекса различия не было обнаружено ($40 \pm 10\%$ и $28 \pm 7\%$, при $P > 0,05$ для палеомозжечка и 17 ± 10 и $40 \pm 11\%$, при $P > 0,05$ —для неомозжечка).

При регистрации ВО из трех зон мозжечка—медиальной, парамедианной и латеральной оказалось, что связи неокортикальных полей с медиальной зоной более мощные ($65 \pm 11\%$), чем с парамедианной ($32 \pm 6\%$) и латеральной ($31 \pm 6\%$) зонами, ($P < 0,05$).

Длительность скрытых периодов ВО коры мозжечка на стимуляцию коры большого мозга составляла от 1 до 15 мсек, ответы состояли из 1—3 разнополярных компонентов. В общем количестве зарегистрированных ВО коры мозжечка на стимуляцию коры больших полушарий не было обнаружено преобладания коротко- (1—2 мсек) или длинноталентных (свыше 2 мсек) ответов (48 ± 7 и $52 \pm 7\%$ соответственно). Не было выявлено также достоверных различий между раздражениями ипси- и контралатеральной сторон. В то же время в неocerebellуме преобладали длинноталентные ВО, а в палеocerebellуме достоверных различий между коротко- и длинноталентными ответами не наблюдалось.

На рис. 1 представлены ответы доли III коры мозжечка на стимуляцию различных полей коры больших полушарий. ВО возникали при раздражении полей 4 и 2 обоих полушарий, 7 ипси- и 17 контралатерального полушария. При стимуляции же полей 9 обоих полушарий, 7 контралатерального полушария и 6 и 17 ипсилатерального—ответы отсутствовали.

ВО коры мозжечка на стимуляцию моторных полей обоих полушарий (поле 4) и сенсомоторной коры (поле 2) контралатерального полушария (рис. 1, А—3; Б—2 и 3) были короткоталентными (1 мсек), трехкомпонентными и первично-негативными. Пиковое время этих компонентов составляло 4—6, 9—16 и 22—35 мсек соответственно. Остальные

же ответы (рис. 1, А-4 и 5; Б-5) были длиннолатентными (5 мсек), 1—3-компонентными. Их пиковое время колебалось в пределах 6—12 и 15—30 мсек.

Исходя из наших данных, можно прийти к выводу, что кора больших полушарий имеет широкие связи с корой мозжечка. Эти связи почти одинаковы для обоих полушарий.

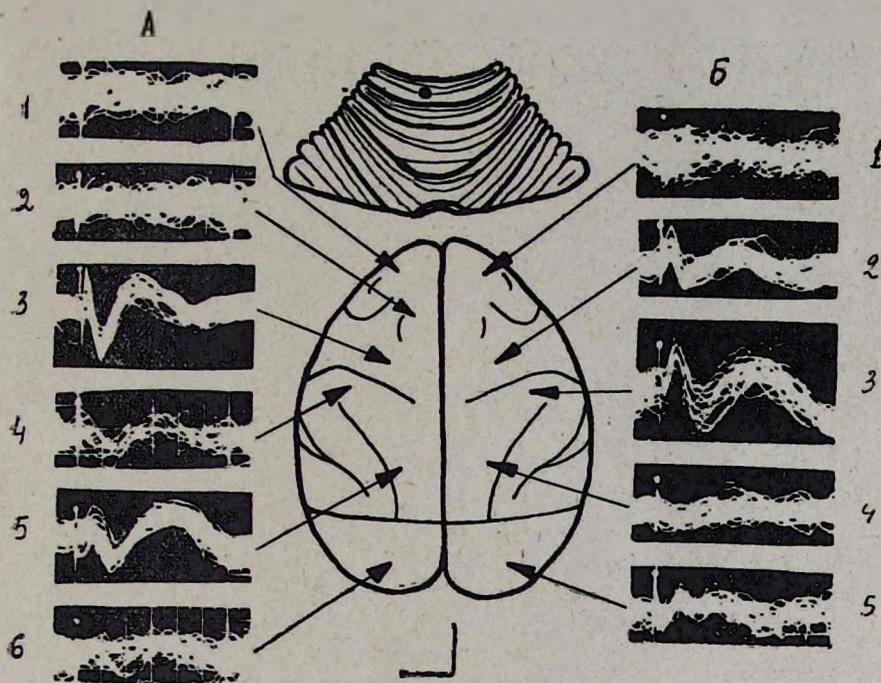


Рис. 1. Вызванные ответы доли III коры мозжечка на стимуляцию различных полей коры больших полушарий. Калибровка—100 мкВ, время—20 мсек.

Различные корковые поля по-разному связаны с корой мозжечка, при этом моторная и затылочная области имеют более обширные эфферентные связи с корой мозжечка, чем другие зоны. Это, по-видимому, можно объяснить значением зрительной информации в координации двигательной активности.

Анализ ответов коры мозжечка показал, что наряду с длиннолатентными ответами регистрировались и коротколатентные (1—2 мсек), что говорит о существовании прямых, моносинаптических связей между корой больших полушарий и мозжечком. В литературе имеются лишь нейроморфологические данные о существовании прямых путей, связывающих эти два образования мозга [15—17].

На рис. 2 приводятся примеры одиночных записей ВО коры мозжечка на стимуляцию разных областей коры больших полушарий, где четко выявляется краткость скрытых периодов (1—2 мсек) ответов.

Исходя из приведенного фактического материала и литературных данных, можно заключить, что существует несколько различных путей

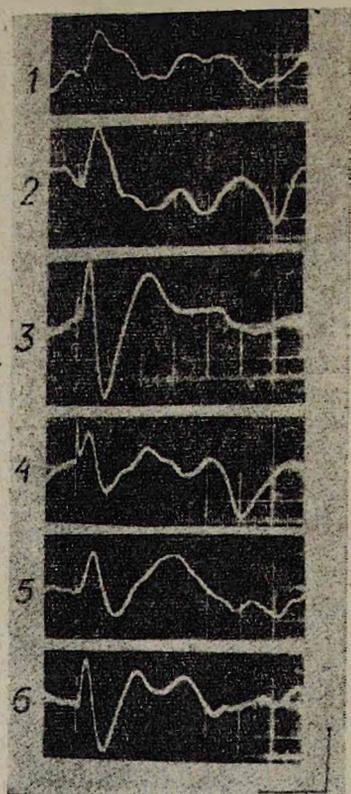


Рис. 2. Одиночные реализации вызванных ответов коры мозжечка на стимуляцию моторной (1, 3, 4 и 6) и сенсомоторной (2 и 5) коры больших полушарий. Калибровка—10 мкВ, время—20 мсек.

Институт экспериментальной патологии и терапии,
АМН СССР, г. Сухуми

Поступило 20.II 1978 г.

влияния коры больших полушарий на мозжечок. Это обнаруженные как в наших, так и в других исследованиях [15—17] прямые моносинаптические связи и хорошо выраженные полисинаптические пути, переключающиеся в ядрах моста, сетевидного образования и в оливарных ядрах [4, 10—12, 14, 21].

Таким образом, методом регистрации ВО на локальную электрическую стимуляцию различных полей (9, 6, 4, 2, 7 и 17) коры больших полушарий обезьян установлены тесные билатеральные связи этих областей с ростральным отделом коры мозжечка.

По частоте возникновения ответов различия в выраженности между ипси- и контралатеральными связями выявить не удалось. Показано, что моторная (поле 4) и затылочная (поле 17) корковые области более тесно связаны с корой мозжечка, чем премоторная (поле 6) и сенсомоторная (поле 2).

Наличие коротколатентных ответов (1—2 мсек) позволяет считать, что кора больших полушарий имеет наряду с полисинаптическими и прямыми, моносинаптические связи с корой мозжечка.

ԿԵՂԵՎ-ՈՒՂԵՂԻԿԱՅԻՆ ԿԱՊԵՐԻ ԷԼԵԿՏՐԱՖԻԶԻՈԼՈԳԻԱԿԱՆ
ՀԵՏԱԶՈՏՈՒԹՅՈՒՆԸ ԿԱՊԻԿՆԵՐԻ ՄՈՏ

Ն. Յ. ՍՈՑԻԱԴԻՍ

Աշխատանքում յատմանսիրվել են ուղեղիկի կեղևի ռոստրալ մասում գրանվող հրահրված պոտենցիալները՝ գլխուղեղի կեղևի տարբեր դաշտերի (9, 6, 4, 2, 7, 17) էլեկտրական գրգռումների հանդեպ:

Յույց է արված, որ կեղևի 4 և 17 դաշտերը առավել սերտորեն են կապված ուղեղիկի կեղևի հետ: Կարճ գաղտնի շրջաններով (1—2 մվ) պոտենցիալների գրառումը վկայում է, որ գլխուղեղի կեղևի և ուղեղիկի կեղևի միջև գոյություն ունեն ուղղակի, անմիջական կապեր:

ELECTROPHYSIOLOGICAL ANALYSIS OF CORTICO-CEREBELLAR CONNECTIONS IN MONKEYS

N. F. SOFIADIS

Evoked responses of rostral cerebellar cortex to the stimulations of bilaterally located different cerebral cortical fields (9, 6, 4, 2, 7, 17) were studied. It has been shown that there are more significant connections with cerebellum from cerebral cortex fields 4 and 17. The existence of short latency (1—2 ms) stable responses indicates that there are some direct, monosynaptic pathways from the cerebral cortex to the cerebellar cortex.

Л И Т Е Р А Т У Р А

1. *Иргер И. М., Корейша Л. А., Томаская Э. С.* Электрическая активность мозжечка человека в норме и патологии. М., 1959.
2. *Adrian E. D.* Brain, 66, 289—315, 1943.
3. *Brodal P.* Exp. Brain Res., 5, 210—234, 1968.
4. *Evarts E. V., Thach W. T.* Ann. Rev. Physiol., 31, 451—498, 1969.
5. *Hampson J. L., Harrison C. H., Woolsey C. N.* Res. Nerv. a. Ment. Dis. Proc. 30, 299—316, 1952.
6. *Jansen J. Jr.* Acta Physiol., Scand. 41, Suppl., 143, 1—99, 1957.
7. *Provini L., Redman S., Strata P.* Brain Res., 6, 378—381, 1967.
8. *Provini L., Redman S., Strata P.* Exptl. Brain Res., 6, 216—233, 1967.
9. *Snider R. S.* A Res. Nerv. Ment. Dis. Proc. 30, 267—281, 1952.
10. *Аршавский Ю. И.* Успехи физиологических наук. 3, 2, 24—53, 1972.
11. *Бродал А.* Ретикулярная формация мозгового ствола. М., 1960.
12. *Allen G. J., Korn H., Oshima T.* Brain Res., 15, 272—275, 1969.
13. *Brodal P., Marsala J., Brodal A.* Brain Res., 6, 252—274, 1967.
14. *Kitai S. T., Oshima T., Provini L., Tsukahara N.* Brain Res., 15, 267—271, 1969.
15. *Дзугаева С. Б.* В кн.: Вопросы морфологии нервной системы. М., 38—46, 1966.
16. *Дзугаева С. Б.* Проводящие пути головного мозга человека (в онтогенезе), М., 1975.
17. *Микеладзе А. Л., Кикнадзе Г. И.* Сообщ. АН ГрузССР, 42, 3, 737—742, 1966.
18. *Snider R. S., Lee J. C.* A stereotaxic Atlas of the Monkey Brain (Macaca Mulatta). The University of Chicago Press, 1961.
19. *Хасабова В. А., Сисоева А. Ф.* В сб.: Вопросы физиологии и экспериментальной патологии. Сухуми, 88—91, 1968.
20. *Mason J. J.* Appl. Physiol., 12, 130—133, 1958.
21. *Sasaki K., Kawaguchi S., Shimono T., Veneda V.* Japan J. Physiol., 19, 95—109, 1969.

СОСТАВ ФРАКЦИЙ НЕГИСТОНОВЫХ БЕЛКОВ ХРОМАТИНА ПРИ ГИДРОКОРТИЗОНОВОЙ ИНДУКЦИИ У КРЫС

Э. С. ГЕВОРКЯН, А. Р. ДЖЕРБАШЬЯН, Г. А. ПАНОСЯН

Методом фенольной экстракции выявлен состав негистоновых белков хроматина мозга и печени крыс в контроле и при подкожном введении животным гидрокортизона. Показано, что гормон в концентрации, индуцирующей ряд ферментативных систем в обеих тканях крыс, вызывает ощутимые изменения в составе фенолрастворимых негистоновых белков хроматина, выражающиеся в уменьшении одних и увеличении других фракций.

Роль отдельных компонентов хроматина в активировании генетического аппарата при гормональной индукции выявлена далеко не полностью. В литературе все чаще появляются данные, свидетельствующие о возможной ключевой роли отдельных фракций негистоновых белков хроматина при гормональных воздействиях [1—4]. С этой точки зрения исследование состава негистоновых белков хроматина может явиться необходимым начальным этапом изучения тех структурных и функциональных изменений, которые претерпевает хроматин при гормональной индукции.

Настоящая работа посвящена выделению и фракционированию тотальных кислых негистоновых белков хроматина клеток мозга и печени крыс при гидрокортизоновой индукции.

Материал и методика. Эксперименты проводили на крысах обоего пола. Гидрокортизон (фирмы «Рихтер», ВНР) вводили в концентрации, индуцирующей ряд ферментативных систем—5 мг на 100 г веса животного.

Выделение ядер. Ядра выделяли двумя методами: Ловtrup-Рейна и Мак Ивена [5], а также по методике, основанной на ряде имеющихся в литературе методов [6—8]. Ткани гомогенизировали в смеси, содержащей 0,25 М сахарозу, 3 мМ MgCl₂, фильтровали через 2—4 слоя марли, центрифугировали 5 мин при 1000 g. Осадок ресуспензировали в 0,5% тритоне X-100, 0,25 М сахарозе, 2 мМ MgCl₂; центрифугировали 5 мин при 1000 g. Осадок промывали два раза в 0,25 М сахарозе, 1 мМ MgCl₂ и центрифугировали 20 мин при 2000 g. Очищенный осадок ядер ресуспензировали в растворе, содержащем 0,5 М сахарозу, 1 мМ MgCl₂, 1 мМ 2-меркаптоэтанол в 10 мМ трис-HCl буфере pH 7,4; 1% тритон X-100. Гомогенат фильтровали через капрон и центрифугировали 10 мин при 1000 g. Осадок промывали два раза в 0,25 М сахарозе, 1 мМ MgCl₂.

Выделение хроматина. При выделении хроматина основывались на ряде известных в литературе методов [6, 8, 9]. Осадок ядер ресуспензировали в 50 объемах раствора 0,075 NaCl, 0,042 М Na-ЭДТА, pH 7,9; центрифугировали 10 мин при 10000 g. Эту процедуру повторяли три раза. Затем осадок промывали соответственно в следу-

ющих трех растворах: 0,01 М трис-HCl, 0,005 М трис-HCl; 0,001 М трис-HCl, pH 7,9 во всех случаях. Во всех процедурах при выделении ядер и хроматина использовали метабисульфит калия для подавления активности протеаз. Соотношение белок/ДНК для полученного нами хроматина равнялось 1,47 (из мозга) и 1,41 (из печени).

Выделение негистоновых белков. Негистоновые белки выделяли по методу Тенга и др. [10]. Из очищенных ядер без предварительного выделения хроматина осадок ядер промывали в 0,01 М трис-HCl буфере pH 7,9 и центрифугировали 10 мин при 10000 g. Затем для удаления кислых белков ядер осадок растворяли в 0,14 М NaCl. Эту процедуру повторяли три раза. Для удаления кислотно-растворимых белков хроматина осадок дважды промывали по 30 мин в 0,25 М HCl, а затем центрифугировали 15 мин при 4000 g. Осадок суспензировали в смеси, содержащей 0,1 М трис, 0,01 М Na-ЭДТА pH 9,0; 0,14 М 2-меркаптоэтанол и равные объемы фенола, насыщенного этим же раствором, и оставляли в течение 16 час. После перемешивания центрифугировали 30 мин при 4000 g. Отсасывали фенольные фазы, негистоновые белки осаждали, добавляя два объема холодного метанола. Осадки негистоновых белков хроматина трижды промывали метанолом, подсушивали на воздухе и растворяли в соответствующих растворителях для фракционирования.

Электрофорез негистоновых белков. Для фракционирования применяли электрофорез в полиакриламидном геле в двух системах—с мочевиной и с додецилсульфатом натрия. При электрофорезе в системе полиакриламидный гель—мочевина белки растворяли в 9 М мочевины и 0,9 н уксусной кислоте, а при электрофорезе—в системе полиакриламид—додецилсульфат натрия—в 1% Na-додецилсульфате и 0,1 М натрий-фосфатном буфере (pH 7,4) [11]. В пробах определяли содержание белка, затем добавляли 2-меркаптоэтанол до концентрации 0,14 М и оставляли на ночь при комнатной температуре. Образцы в количестве 250 мкг наносили на трубочку. Гели обоих типов окрашивали амидочерным 10Б и кумасси бриллиантовым, отмывали от несвязанной краски 7% уксусной кислотой.

Определение белка проводили по методу Лоури и др. [12]. ДНК определяли по методу Дише [13].

Результаты и обсуждение. Выделение и фракционирование негистоновых белков хроматина проводились по методике Тенга и др. [10], позволяющей выделить фенолрастворимые фракции кислых негистоновых белков. Известно, что часть негистоновых белковых фракций, непосредственно участвующих в генной регуляции, в частности фракции, чувствительные к гормональным воздействиям, имеют более кислую природу и хорошо выявляются среди фенолрастворимых негистоновых белков. Однако растворение в феноле приводит к довольно значительному загрязнению препаратов ядерномембранными белками, которые частично можно удалить обработкой 0,5% тритоном X-100 [14]. Учитывая сказанное, нами применялась методика Тенга и др. с соответствующими изменениями для достижения хорошей очищенности с минимальными денатурационными потерями. При изменениях метода основывались на ряде имеющихся в литературе методов по выделению ядер и хроматина, с применением на всех стадиях выделения метабисульфита калия.

Предварительно нами было показано, что негистоновые белки, выделенные непосредственно из очищенных ядер и из предварительно выделенного из ядер хроматина почти идентичны, что, по-видимому, свидетельствует либо о незначительной загрязненности препаратов, либо о том, что измененная нами методика не позволяет удалять ядерномембранные контаминанты даже при тритоновой обработке.

На рисунке представлены электрофореграммы негистоновых белков хроматина из ядер мозга и печени крыс, из которых видно, что негистоновые белки, выделенные из этих тканей, представлены 17—20 фракциями, причем 3—4 фракции, выявленные в хроматине из мозга, отсутствуют в таковой из печени. Последнее согласуется с имеющимися в литературе данными о тканеспецифичности негистоновых белков хроматина, в частности, с наличием ряда «уникальных» фракций в хроматине мозговой ткани крыс, имеющих, по-видимому, особое физиологическое значение, характерное для сложной организации и функции мозговой ткани [15].

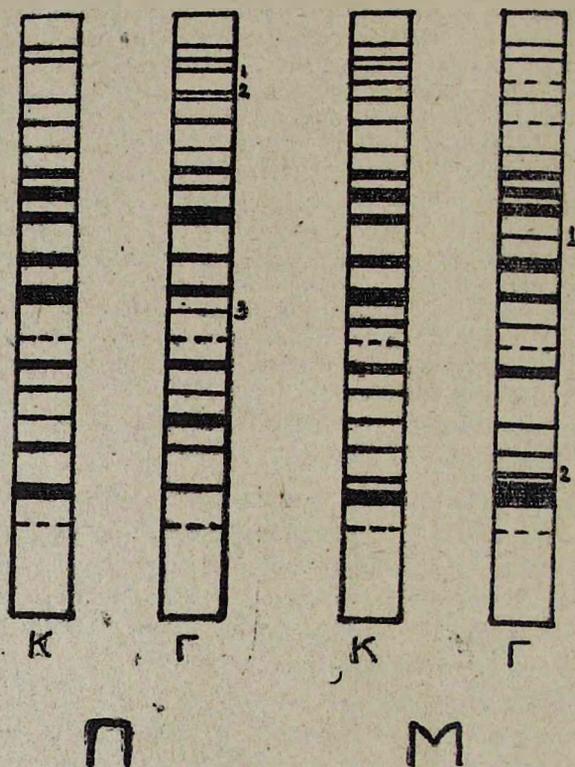


Рис. Электрофореграммы фенолрастворимых негистоновых белков хроматина печени (П) и мозга (М) крыс в контроле (К) и при гидрокортизоновой индукции (Г). Цифрами на электрофореграммах обозначены появившиеся при гормональной индукции фракции.

На рис. приведены также электрофореграммы негистоновых белков хроматина клеток печени и мозга обработанных гидрокортизоном крыс, из которых явствует, что под действием гормона состав негистоновых белков хроматина из обеих тканей претерпевает значительные изменения. Меняется интенсивность минимум 2—3 фракций, чувствительных к воздействию гидрокортизоном; появляются 2—3 новые фракции, а некоторые—исчезают. Полученные результаты частично совпадают с немногочисленными литературными данными. Так, было пока-

зано, что в составе негистоновых белков хроматина имеется фракция, интенсивность которой при гормональной индукции резко возрастает. Предполагается, что данная фракция может играть ключевую роль во взаимодействии гормон-рецепторного комплекса с хроматином [2]. Кроме того, имеются данные и об уменьшении определенной фракции негистоновых белков под воздействием гидрокортизона [4]. Учитывая то, что гидрокортизон является «универсальным» индуцирующим гормоном, способным регулировать биосинтез ряда ферментативных систем в тканях высших животных, полученное нами изменение интенсивности ряда фракций негистоновых белков можно, видимо, объяснить сродством гидрокортизона к разным участкам хроматина. Однако более вероятным является предположение о том, что фракционированные нами белки содержат определенное количество ядерномембранных контаминантов, которые выделены нами вместе с истинными негистоновыми белками хроматина. Хотя в литературе имеются сведения о том, что тритоновая обработка ядер приводит к уменьшению сродства к ДНК негистоновых белков, выделенных фенольной экстракцией по Тенгу и др., т. е. к предполагаемой потере ядерномембранных белков, обладающих высоким сродством к ДНК [14], не исключена возможность и того, что обработка ядер тритоном X-100, разрушающая полностью внутреннюю и частично внешнюю структуру ядерной мембраны, может приводить к «облегчению» выделения этих отделившихся от мембранной структуры белков вместе с негистоновыми белками хроматина. На такую возможность указывают также работы Джексона [16].

Учитывая сказанное, полученные нами ощутимые изменения в составе негистоновых белков при воздействии гидрокортизоном, по-видимому, можно объяснить в основном изменением ядерномембранных белков, чувствительных к гидрокортизон-рецепторному комплексу. Белки ядерномембранной структуры могут претерпевать значительные изменения при проникновении гормон-рецепторного комплекса в ядро. Эти изменения, возможно, непосредственно связаны с дальнейшим специфическим активированием генетического аппарата и несомненно требуют более детального и всестороннего исследования.

Ереванский государственный университет,
кафедра биофизики

Поступило 10.XI 1977 г

**ՔՐՈՄԱՏԻՆԻ ՈՉ ՀԻՍՏՈՆԱՅԻՆ ՍՊԻՏԱԿՈՒՑՆԵՐԻ ՖՐԱԿՑԻԱՆԵՐԻ
ԿԱԶՄԸ ԱՌԵՏՆԵՐԻ ՄՈՏ՝ ՀԻԴՐՈԿՈՐՏԻՉՈՒՆԱՅԻՆ
ԻՆԴՈՒԿՑԻԱՅԻ ԴԵՊՔՈՒՄ**

Է. Ս. ԳԵՎՈՐԳՅԱՆ, Ա. Ռ. ԶՐԹԱՇՅԱՆ, Գ. Հ. ՓԱՆՈՍՅԱՆ

Ֆենոլային էքստրակցիայի մեթոդով ի հայտ է բերվել կոնտրոլ և հիդրոկորտիզոն սրակած կենդանիների զլխուղեղի և լյարդի քրոմատինի ոչ հիստոնային սպիտակուցների կազմը: Ձույց է տրվել, որ հորմոնը առաջացնում է

քրոմատինի ֆենոլում լուծվող ոչ հիստոնային սպիտակուցների կազմի զգալի փոփոխություն, որն արտահայտվում է սի քանի ֆրակցիաների ինտենսիվության անմամբ և մյուսների նվազմամբ:

THE FRACTION COMPOSITION OF NON-HISTONE CHROMATIN PROTEINS DURING HYDROCORTIZONE INDUCTION IN RATS

E. S. GEVORKIAN, A. R. CHERBASHIAN, G. A. PANOSYAN

The composition of brain and liver chromatin non-histone proteins of normal and subcutaneously hydrocortizone injected rats has been revealed by the phenol extraction method. It was shown that the hormone caused the marked changes in the composition of phenol extractable chromatin non-histone proteins which are expressed in qualitative and quantitative changes of these fractions.

Л И Т Е Р А Т У Р А

1. O'Malley B. W., Means A. R. The cell Nucleus ed. by H. Bush, 3, 379—417, 1974.
2. Shelton K. K., Alfrey V. A. Nature, 228, 132—134, 1970.
3. Spelsberg T. S., Wilhelm J., Hnilica L. S. Sub. Cell. Biochem, 1, 107—145, 1972.
4. Уманский С. Р. Успехи биол. химии, 26—44, 1976.
5. Lovtrup—Rein H., McEwen B. S. J. Cell. Biol., 30, 2, 405, 1966.
6. Spelsberg T. S., Steggle A. W., O'Malley B. W. J. Biol. Chem., 246, 13, 4188—4197, 1971.
7. Blobel G., Peter V. R. Science, 154, 1662—1665, 1966.
8. Mac Gillivray A. J. et al. Methods in Enzymology, 40, part E, 160—171, 1975.
9. Marushige K., Bonner J. J. Molec. Biol., 15, 166—174, 1966.
10. Teng C. S., Teng C. T., Alfrey V. G. J. Biol. Chem., 246, 11, 3597—3609, 1971.
11. Панченко Л. Ф., Сапунов М. И. Бохонько А. И. Укр. биохим. журн., 46, 1, 73—77, 1974.
12. Lowry O. H., Rosebrough N. J., Farr A. L., Randall R. J. J. Biol. Chem., 193—265, 1951.
13. Филиппович Ю. Б., Егорова Т. А., Севастьянова Г. А. Практикум по общей биохимии, 181—182. М., 1975.
14. Rowekamp W., Sekeris C. E. Arch. Biochem. Biophys., 160, 156—161, 1974.
15. Elgin S., Bonner J. Biochemistry, 11, 5, 772, 1972.
16. Jackson R. C. Biochemistry, 15, 25, 5652—5655, 1976.

МАТЕМАТИЧЕСКОЕ ОПИСАНИЕ НЕКОТОРЫХ
ЗАКОНОМЕРНОСТЕЙ ВЫДЕЛЕНИЯ МЕДИАТОРА
СИНАПТИЧЕСКИМИ ОКОНЧАНИЯМИ

Д. С. МЕЛКОНЯН, О. А. МКРТЧЯН, Н. С. ХОНДКАРЯН

Предложена математическая модель синаптической передачи, учитывающая степень концентрации медиатора, его расход под действием пресинаптической активности и влияние этих процессов на генерацию ПСП. На этой основе разработана уточненная схема замещения аксо-соматического входа нейрона, алгоритм и программа машинного расчета ПСП, позволившие смоделировать в машинных экспериментах частотные характеристики синапсов в соответствии с известными экспериментальными данными.

В работе Кертиса, Эклса [1], посвященной изучению эффективности синаптической передачи в условиях ритмической стимуляции, показано сложное влияние частоты пресинаптической стимуляции на величину постсинаптического потенциала (ПСП) в установившемся состоянии. Установлено, что особенности изменения частотных характеристик синапсов определяются взаимодействием двух основных процессов, развивающихся в пресинаптическом окончании: процессов истощения и мобилизации медиатора. Представления о природе этих процессов существенно углублены благодаря изучению влияния выключения процесса мобилизации медиатора на эффективность синапсов [2] и частотных зависимостей для случаев, когда практически отсутствуют процессы истощения медиатора [3].

В соответствии с этим предложен ряд математических моделей [4, 5], описывающих процессы облегчения и депрессии, связанные с изменением концентрации медиатора в синаптическом окончании.

Однако теоретический анализ указанных и ряда других математических моделей синаптической передачи и сравнение предсказываемых ими результатов с данными экспериментов значительно затруднены из-за сложности аналитического исследования уравнений и невозможности выбора ряда параметров на основании экспериментальных данных. В этом отношении благоприятные перспективы открывает применение методов моделирования на электронных вычислительных машинах. Так, в работе Эро [6] с помощью методов аналогового моделирования на электронной схеме-аналоге удалось воспроизвести ряд характерных особенностей синаптической передачи в виде, допускающем сравнение с данными электрофизиологических экспериментов.

Использование аналоговых вычислительных устройств в рассматриваемых целях значительно менее эффективно (моделирование систем с дискретным временем, учет нелинейных и параметрических явлений, универсальность, возможность варьирования параметров и т. д.) по сравнению с техникой моделирования на электронных цифровых вычислительных машинах (ЭЦВМ). В работе Перкеля [7] предложена математическая модель синапса, предназначенная для моделирования на ЭЦВМ при расчетах нейронных сетей, в которой количество способного к выделению медиатора рассчитывается путем решения линейного дифференциального уравнения первого порядка. В модели, однако, не учитывается роль процессов мобилизации медиатора, вследствие чего не поддается описанию, к примеру, фаза потенциации синапса, возникающая в начальной стадии действия серии пресинаптических импульсов.

В настоящей работе предлагается нелинейная динамическая модель синапса, ориентированная на применение ЭЦВМ, в которой дается совместное описание процессов мобилизации, расхода и восполнения медиатора. Результаты рассмотрения этих факторов анализируются путем машинного моделирования ПСП и сравнения проявляемых им свойств с известными данными электрофизиологических экспериментов.

Математическая модель синаптической передачи. В рассматриваемой модели математическое описание синаптической передачи (СП) основывается на анализе характеризующих ее соотношений типа вход-выход и формулировке законов их изменения под влиянием пресинаптической импульсации. Для этих целей модель СП подразделяется на ряд взаимосвязанных систем, как это показано на рис. 1. Система,

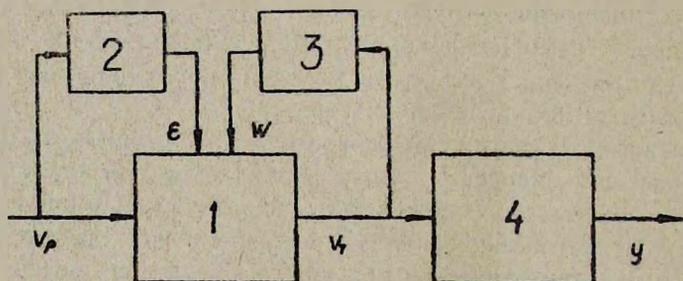


Рис. 1. Блок-схема модели синаптической передачи.

представленная блоком 1, соответствует пресинаптическому окончанию и служит описанием комплекса физико-химических процессов, обеспечивающих выброс медиатора в синаптическую щель под действием пресинаптических импульсов. Этот блок рассматривается как система с дискретным временем, входная V_p (пресинаптическая импульсация) и выходная V_t (количество медиатора, высвобождаемого в синаптическую щель), функции которой отличны от нуля в дискретные моменты времени. Функция V_p представляется в виде

$$V_p(t) = \sum_{i=1}^n \delta(t - t_i), \quad (1)$$

где $\delta(t)$ —дельта функция Дирака, t_i —моменты поступления пресинаптических импульсов. Моменты времени t_i должны удовлетворять условию

$$t_i - t_{i-1} \geq t_r,$$

где t_r представляет величину рефрактерного периода.

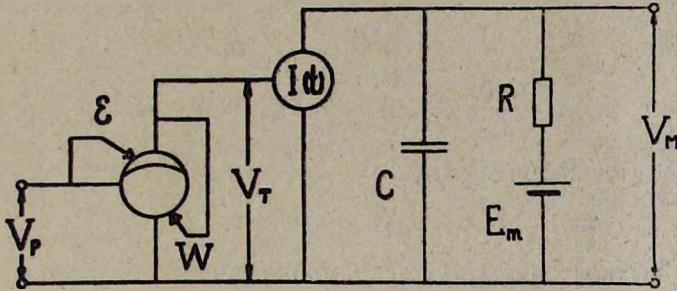


Рис. 2. Уточненная эквивалентная схема синаптической передачи.

В соответствии с существующими представлениями о механизмах синаптической передачи уравнение для расчета функции $V_T(t)$ записывается в виде

$$V_T(t) = K_v W_\epsilon(t - \Delta) \cdot V_p(t - \Delta), \quad (2)$$

где Δ —временная задержка между моментами поступления пресинаптического импульса и высвобождения под его воздействием порции медиатора, $W_\epsilon(t)$ —количество медиатора, мобилизованного к высвобождению, K_v —коэффициент, показывающий долю медиатора от его общего количества, высвобождаемого под действием одиночного импульса.

Переменная $W_\epsilon(t)$, являющаяся естественным параметром пресинаптического окончания, рассматривается как функция времени, характер изменения которой определяется динамикой процесса стимуляции. При этом принимается

$$W_\epsilon(t) = \epsilon(t) \cdot W(t), \quad (3)$$

где $W(t)$ —общее количество медиатора в пресинаптическом окончании, $\epsilon(t)$ —доля медиатора, мобилизованного к высвобождению.

Расход и восполнение медиатора. Процессы расхода и восполнения медиатора описываются путем расчета функции $W(t)$ согласно линейному дифференциальному уравнению первого порядка, соответствующему в основном модели, предложенной Перкелем [7]. Пусть W_0 —начальный запас медиатора, соответствующий установившемуся уровню при отсутствии стимуляции. Тогда

$$W(t) = W_0 - W_1(t), \quad (4)$$

где $W_1(t)$ —функция, рассматриваемая на основании уравнения

$$T_w \frac{dW_1(t)}{dt} + W_1(t) = K_w \cdot T_w \cdot V_T(t) \quad (5)$$

при начальном нулевом условии $W_1(0) = 0$.

Параметры уравнения имеют следующий смысл: T_w —постоянная времени восполнения медиатора, K_w —коэффициент.

Мобилизация медиатора. Доля медиатора, подготовленная к высвобождению, описывается уравнениями

$$\varepsilon(t) = \varepsilon_0 + \varepsilon_1(t), \quad (6)$$

$$T_s \frac{d\varepsilon_1(t)}{dt} + \varepsilon_1(t) = T_s \cdot K_s \cdot r(t) \quad (7)$$

(начальное условие $r(0) = 0$),

$$r(t) = W(t - \delta) [1 - \varepsilon(t - \delta)] V_p(t - \delta), \quad (8)$$

$\varepsilon_1 = \varepsilon(0)$, T_s —постоянная времени мобилизации медиатора, K_s —коэффициент, δ —задержка между моментами поступления пресинаптического импульса и изменения под его воздействием количества мобилизованного медиатора.

Соотношения (6)—(8) являются нелинейными. Действительно, величину $W(t) [1 - \varepsilon(t)]$ можно трактовать как объем медиатора, не готового к высвобождению. Прирост количества мобилизованного медиатора происходит из этой доли. Как следует из уравнения (8), чем меньше эта доля, тем меньший прирост получает функция $r(t)$ и соответственно $\varepsilon(t)$.

Решение уравнений модели. Расчет изменения во времени функции производится путем совместного решения уравнений расхода-восполнения и мобилизации медиатора.

Из уравнений (4) и (5) следует, что если на пресинаптическое окончание поступает импульсация, описываемая выражением (1), то изменение запаса медиатора определяется выражением

$$W(t) = W_0 - K_w \cdot K_r \sum_{i=1}^n W_s(t_i) \exp\left(-\frac{t-t_i^\Delta}{T_w}\right) \cdot 1(t-t_i^\Delta), \quad (9)$$

где $t_i^\Delta = t_i + \Delta$.

Аналогичным образом из уравнений (6) и (7) следует соотношение для расчета количества мобилизованного медиатора

$$\varepsilon(t) = \varepsilon_0 + K_s \sum_{i=1}^n W_s(t_i) [1 - \varepsilon(t_i)] \exp\left(-\frac{t-t_i^\delta}{T_s}\right) \cdot 1(t-t_i^\delta), \quad (10)$$

где $t_i^\delta = t_i + \delta$.

Временная суммация ПСП. Выходная переменная системы I —количество медиатора, высвобождаемого в синаптическую щель—не мо-

жет быть непосредственно измерена экспериментальным путем. Однако, как известно, о закономерностях выделения медиатора косвенным путем, но с большой точностью, можно судить в случае моносинаптического раздражения, по характеру изменения ПСП, измеряемого электрофизиологическими методами. Для возможности анализа модели путем сравнения описываемых ею процессов с экспериментальными данными в ее состав введена система 4, соответствующая постсинаптической мембране, выходной переменной которой является функция времени Y , описывающая суммарный ПСП. Уравнение, описывающее суммарный ПСП, вызванный поступлением «п» пресинаптических импульсов, при $t > 0$ записывается в виде

$$Y = \sum_{i=1}^n V_r(t_i + \Delta) \cdot Z(t - t_i - \Delta) \cdot 1(t - t_i - \Delta), \quad (11)$$

где величина V_r определяется на основании уравнения (2), а $Z(t)$ — функция времени, описывающая ПСП под действием одиночного пресинаптического импульса [8].

На основании модели предлагается уточненная эквивалентная схема синаптической передачи (рис. 2), предназначенная для расчета ПСП по заданной функции пресинаптической стимуляции. Символическое обозначение четырехполюсника, включенного между переменными V_p и V_r , предназначено для обозначения в электрических схемах замещения нейрона пресинаптического окончания, рассчитываемого с учетом процессов мобилизации и истощения медиатора. Постсинаптическая мембрана представлена известной схемой замещения в модификации с управляемым источником тока [8].

Данные машинных экспериментов. На основании вышеописанной модели разработаны алгоритм и программы (для ЭЦВМ семейства «Наири»), позволяющие имитировать методами машинного моделирования условия ритмической пресинаптической стимуляции. В машинных экспериментах, результаты которых представлены на рис. 3—5, ставилась задача подбора параметров модели, обеспечивающих близкое количественное совпадение расчетных частотных характеристик модели с экспериментальными [1—3]. Полученные значения параметров приведены в таблице. Значения параметров, не влияющих существенным образом на характер частотных зависимостей, принимались постоянными во всех сериях экспериментов: $\delta = 0,5$ мсек, $\Delta = 0,5$ мсек, $K_w = 1$ (отн. ед.).

На рис. 3 приведены данные машинных экспериментов, иллюстрирующие переходную характеристику возбуждающего сигнала при разных частотах пресинаптической стимуляции, а также характер зависимости величин установившихся значений возбуждающего постсинаптического потенциала (ВПСП) и тормозного постсинаптического потенциала (ТПСП) от частоты стимуляции. Как видно из рисунка, модель с достаточной степенью точности воспроизводит кривые, полученные экспериментально.

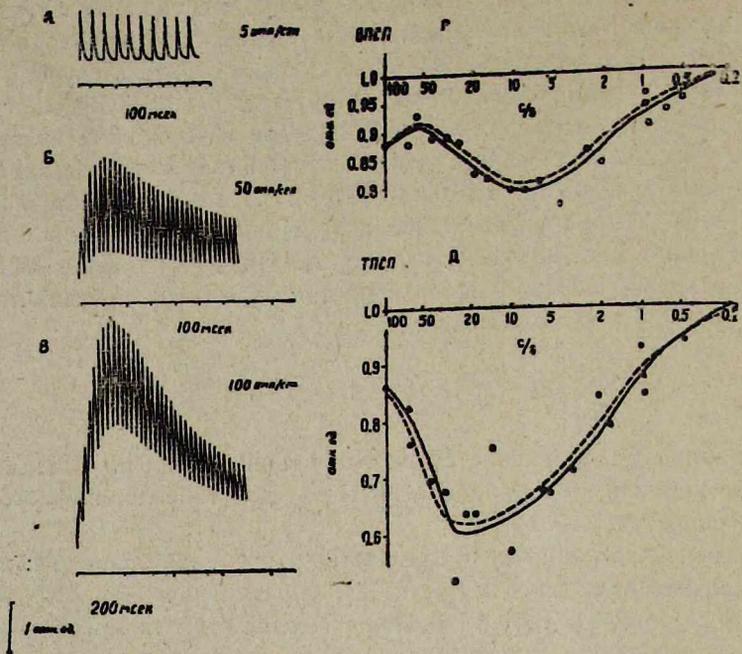


Рис. 3. А, Б, В—переходная характеристика возбуждающего синапса при частотах стимуляции 5, 50 и 100 имп/сек соответственно. Г, Д—зависимость установившихся значений моносинаптических ПСП (Г—ВПСП, Д—ТПСП) от частоты пресинаптической стимуляции. Кружки, точки и сплошные линии—экспериментальные данные по [1]. Пулжирные кривые—расчетные данные, по предлагаемой модели, при параметрах, приведенных в таблице.

Таблица

Номера рисунков	Параметры модели				
	ϵ_0	K_a	K_V	T_V	T_e
	отн. ед.			мсек	
Рис. 3, А, Б, В, Г,	0,1	0,1	0,1	5000	50
Рис. 3, Д	0,1	0,3	0,15	15000	10
Рис. 4, кривая 1	0,1	0,1	0,13	20000	50
Рис. 4, кривая 2	0,1	0	0,13	20000	—
Рис. 5, кривая 1	0,4	0,5	0,15	20000	100
Рис. 5, кривая 2	0,25	0,1	0,03	40000	60

Весьма важным показателем адекватности модели рассматриваемым процессам является то, что эффекты, производимые «включением» в модели процесса мобилизации (рис. 4) или уменьшением величины истощения (рис. 5), в качественном и количественном отношении правильно воспроизводят экспериментальные зависимости.

Результаты проведенных машинных экспериментов показывают, что разработанная модель позволяет с достаточной степенью точности воспроизводить основные закономерности изменения эффективности синаптической передачи в условиях ритмической пресинаптической стимуляции. Основные процессы изменения эффективности синаптической передачи при ритмическом раздражении могут быть объяснены сравнительно простыми представлениями о механизмах мобилизации, расхода и восполнения медиатора, имеющими в своей основе достаточно установленные физиологические данные.

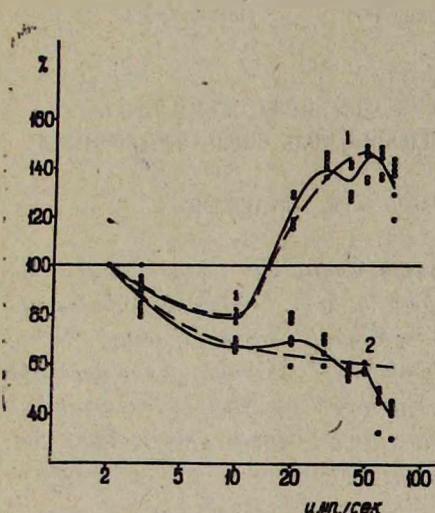


Рис. 4.

Рис. 4 Зависимость установившихся значений ритмических ВПСР для нормального (кривая 1) и дегенерирующего (кривая 2) синаптических окончаний.

Кружки, точки и сплошные линии—экспериментальные данные по [2] Пунктирные кривые—результаты машинных экспериментов при параметрах, приведенных в таблице.

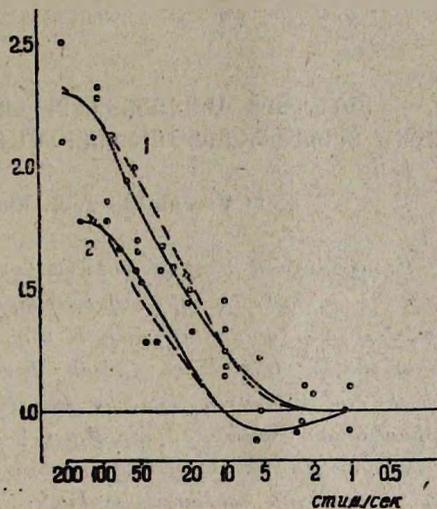


Рис. 5.

Рис. 5. Зависимость установившихся значений ритмических ВПСР (1) и ТПСР (2) при незначительном истощении медиатора. Кружки, точки и сплошная линия—экспериментальные данные по [3]. Пунктирные кривые—результаты машинных экспериментов при параметрах, приведенных в таблице.

Благодаря малому расхождению расчетных кривых с экспериментальными полученные данные модели можно рассматривать как параметры пресинаптических окончаний, на которых проводились смоделированные электрофизиологические эксперименты.

Непосредственное изучение в физиологическом эксперименте процессов синаптической передачи, связанных с мобилизацией, расходом и восполнением медиатора, вызывает при современном уровне техники значительные трудности. В этом отношении методы математического моделирования, позволяющие путем сверки данных натуральных и машинных экспериментов проверять различные гипотезы относительно синап-

тических процессов, можно рассматривать как дополнительное средство для анализа и интерпретации данных физиологического эксперимента. Подбор параметров модели позволяет определить ряд таковых синаптической передачи, относящихся к процессам мобилизации, расхода и восполнения медиатора, которые не могут быть непосредственно получены экспериментальным путем.

Таким образом, разработанная модель дает возможность для анализа и количественной оценки данных электрофизиологических экспериментов, в которых необходим учет влияния пресинаптических процессов на постсинаптические потенциалы.

Институт физиологии им. Л. А. Орбели АН АрмССР

Поступило 3.VIII 1977 г.

ՄԻՆԱՊՏԻԿ ՎԵՐՋՈՒՅՔՆԵՐԻ ԿՈՂՄԻՑ ՄԻՋՆՈՐԴԻ ԱՆՋԱՏՄԱՆ ՈՐՈՇ ՕՐԻՆԱԶԱՓՈՒԹՅՈՒՆՆԵՐԻ ՄԱԹԵՄԱՏԻԿԱԿԱՆ ԵՎԱՐԱԳՐՈՒԹՅՈՒՆԸ

Դ. Ս. ՄԵԼԿՈՆՅԱՆ, Հ. Ա. ՄԿՐՏՅԱՆ, Ն. Ս. ԽՈՆԴԱՐՅԱՆ

Առաջարկվում է սինապտիկ փոխանցման մաթեմատիկական մոդել, որը հաշվի է առնում միջնորդի կոնցենտրացիան և նրա ծախսը պրեսինապտիկ ակտիվության ազդեցությամբ և այդ պրոցեսների ազդեցությունը ՊՍՊ-ի գեներացիայի վրա: Դրա հիման վրա մշակված է մեյրոնի արստոմատիկ մուտքի փոխարինման ճշտված սխեմա, ալգորիթմ և ՊՍՊ-ի հաշվարկման մեքենայական ծրագիրը, որը լիուր է տալիս մոդելավորել սինապտիկ հաճախականային բնութագրերը մեքենայական փորձերում՝ հայտնի փորձնական տվյալներին համապատասխան:

MATHEMATICAL DESCRIPTION OF SOME REGULARITIES OF TRANSMITTER RELEASE BY SYNAPTIC ENDINGS

D. S. MELKONIAN, H. H. MKRTCHIAN, N. S. KHONDKARIAN

A mathematical model of synaptic transmission is proposed for treating its frequency characteristics. Several results of machine modelling are given and they show good quantitative coincidence of theoretical and experimental data.

Л И Т Е Р А Т У Р А

1. Curtis D. R., Eccles J. C. J. Physiol., 150, 374, 1960.
2. Костюк П. Г., Савоськина Л. А. Физиол. журн. СССР, 52, 795, 1966.
3. Костюк П. Г., Василенко Д. Л., Задорожный А. Г. Нейрофизиология, 1, 5, 1969.
4. Liley A. W., North A. K. J. Neurophysiol., 16, 509, 1953.
5. Stevens C. F. Proc. of the IEEE, 56, 916, 1968.
6. Hérault J. Comptes Rendues Academie des Sciences, 270, 159, 1970.
7. Perkel D. H. Comp. and Biomed. Res., 9, 31, 1976.
8. Edwards F. R., Hirst G. D. S., Sillinsky E. M. J. Physiol., 259, 647, 1876.

ТЕПЛОВОЙ СТРЕСС И РАДИОЧУВСТВИТЕЛЬНОСТЬ
НЕКОТОРЫХ ФЕРМЕНТНЫХ СИСТЕМ ОРГАНИЗМА

В. Б. МАТЮШИЧЕВ, В. Р. ТАРАТУХИН, В. Г. ШАМРАТОВА

Изучалось влияние тепловой нагрузки и сочетанного бета (^{85}Kr)-рентгеновского облучения крыс в различных дозах отдельно и комбинировано на АТФазную и креатинкиназную активность кожи—через 5, 12, 19 и 26 суток после воздействий. Выявлено, что по избранным тестам состояние теплового стресса стимулирует увеличение ферментативной активности, но ослабляет последствия облучения животных.

В последние годы все большее внимание привлекает изучение последствий пребывания организма в условиях повышенной тепловой нагрузки. С одной стороны, это вызвано тем, что в круг жизненных ситуаций такого типа вовлекаются все новые сферы человеческой деятельности. Люди могут оказаться в состоянии теплового стресса не только в зонах жаркого климата, на горячем производстве и т. п., но даже при нормальной температуре окружающей среды, если не обеспечивается эффективный теплосъем с поверхности тела [1]. К таким результатам, в частности, приводит длительная работа в индивидуальном снаряжении с теплоизолирующими свойствами. Другая причина повышенного интереса к сопряженным проблемам кроется в том неблагоприятном влиянии, которое оказывает на организм перегревание [2]. При нарушениях терморегуляции ряд физиологических систем и компенсаторных механизмов испытывает огромное напряжение, что, в свою очередь, сопровождается изменением общей реактивности и устойчивости организма к действию других экстремальных факторов.

Нами преследовалась цель получить представление о модифицирующем влиянии интенсивной тепловой нагрузки на радиочувствительность тканевых энзимов при бета-рентгеновском облучении. Комбинированные радиационно-термические воздействия встречаются в практике эксплуатации современных ядерных установок. Информация о сопутствующих сдвигах ферментативной активности необходима для оценки общей картины пострадиационных нарушений. В литературе соответствующие сведения отсутствуют.

Материал и методика. Эксперименты проводились на 248 беспородных белых крысах-самцах весом 160—180 г: 72 интактных животных служили контролем, остальные 176 составили 11 подопытных групп (по 16 крыс в каждой). Животные 5 групп испытывали на себе комбинированное действие гипертермии и радиации. Крыс с эпюлированным участком спины площадью около 35 см² выдерживали 4 час. в герметичной тепловой камере при температуре воздуха 36° (по тесту выживаемости—максимально перено-

симая в данных условиях температура) и относительной влажности 80--90%. Одновременно с тепловой нагрузкой животные подвергались воздействию бета-излучения ^{60}Co в дозах 2,5; 3,05; 4,45 или 7,4 крад. После извлечения из камеры проводили общее рентгеновское облучение крыс в дозах 25 (для дозы β -облучения 2,5 крад), 50 (2,5), 100 (3,05), 250 (4,45) и 400 р (7,4 крад). Технические условия: аппарат РУМ-3, напряжение 180 кв, сила тока 15 ма, фильтр 0,1 мм $\text{Cu} + 1,0$ мм Al , фокусное расстояние 60 см, мощность дозы 26 р/мин. Контроль эффектов комбинированных влияний осуществляли с помощью собственно тепловой нагрузки (1 группа) и отдельного сочетанного бета-рентгеновского облучения в дозах 2,5 крад+25 р; 2,5 крад+50 р; 3,05 крад+100 р; 4,45 крад+250 р; 7,4 крад+400 р (5 групп).

Через 5, 12, 19 и 26 суток после воздействий по 3 крысы из каждой подопытной группы, а также 18 интактных животных декапитировали и определяли АТФазную (АТА) и креатинкиназную (ККА) активности водных экстрактов кожи, взятой с эпилированных участков на спине. Ферментативную активность, выраженную в $\mu\text{моль/мин}$ прироста соответственно неорганического фосфора [3] и креатина [4] в инкубационной пробе, пересчитывали на 1 мг экстрагированного белка. Для статистической обработки данных использовали дисперсионный анализ.

Результаты и обсуждение. Как следует из таблицы, температурный стресс оказывает на избранные энзиматические системы стимулирующее воздействие, хотя и по-разному отражается на их состоянии.

Таблица

Ферментативная активность кожи крыс при бета-рентгеновском облучении организма в различных температурных условиях, % к контролю

Энзим	Сутки после воздействия	Нормотермия					Гипертермия						
		радиационная нагрузка, крад + р											
		0	2,5+25	2,5+50	3,05+100	4,45+250	7,4+400	0	2,5+25	2,5+50	3,05+100	4,45+250	7,4+400
АТ Фаза	5	100	188*	128	240*	216*	264*	229*	327*	92	111	127	180*
	12	100	176*	263*	206*	258*	129	90	186*	275*	160*	183*	199*
	19	100	174*	151*	148*	118	186*	133	162*	149*	148*	133	149*
	26	100	177*	87	130	164*	228*	99	140	125	121	65	96
	СОО	0	79	64	81	89	102	44	104	65	35	49	58
Креатинкиназа	5	100	155*	205*	130	157*	109	150	95	121	170*	83	74
	12	100	192*	186*	187*	62	51*	142	161*	98	96	136	80
	19	100	142*	142*	153*	78	40*	171*	123	168*	111	59	59
	26	100	231*	131	118	62	65	150*	84	146*	136	60	63
	СОО	0	80	66	47	52	77	53	27	34	30	48	47

СОО—средние относительные отклонения от принятого за 100% уровня у интактных животных.

*— $P < 0,05$.

В среднем за 4 срока наблюдения ККА отклоняется от значений в контроле на 53%, АТА—на 44% (без учета знака отклонения). Еще более существенными различиями характеризуется динамика происходящих изменений: если наибольший сдвиг АТА отмечен на 5-е сутки, а в дальнейшем прослеживается тенденция к нормализации активности, то ККА

во все периоды опыта сохраняется практически на одном и том же уровне превышения физиологических величин.

Тем больший интерес представляют данные о влиянии тепловой нагрузки на радиобиологические эффекты. Не трудно установить, что перегревание организма влечет за собой снижение биохимической эффективности действия радиации. В самом деле, в целом по всей совокупности использованных градаций раздельное облучение сопровождается изменением АТА на 83 и ККА на 64%, соответственно при комбинированных радиационно-термических воздействиях 62 и 37%. Еще контрастнее выглядит сопоставление числа производимых отдельными типами облучения достоверных эффектов: на долю АТА приходится соответственно 15 и 11 значимых отклонений, тогда как ККА обнаруживает 12 существенных пострадиационных сдвигов после раздельного облучения и только 4—при комбинированном.

Другой примечательный момент выявляется при анализе частных средних. Оказывается, не существует строгой пропорциональности между величиной дозы и результатом воздействия. Так, хотя облучение животных в условиях нормотермии приводит к наибольшим изменениям АТА после использования максимальной дозы, 4 другие варианта по своей биохимической эффективности вполне сопоставимы. Что же касается дисперсионного комплекса ККА, то здесь вообще самой действенной градацией является сочетание «2,5 крад+25 р». Сходную картину дает и сопоставление отношений, применявшихся в эксперименте комбинаций: для ККА линейность зависимости «доза—эффект» соблюдается только на грани вариантов «t+3,05 крад+100 р» и «t+4,45 крад+250 р», в комплексе АТА доминирующее положение занимает воздействие «t+2,5 крад+25 р».

Это обстоятельство, а именно то, что конечный биохимический эффект не определяется однозначно величиной лучевой или радиационно-термической нагрузки, облегчает интерпретацию полученных данных. Имеющийся в нашем распоряжении материал не дает, правда, информации для суждений о конкретном механизме искажающего влияния теплового стресса, но общие черты можно обозначить достаточно уверенно. Сам факт корректирующего действия пребывания крыс в тепловой камере представляется естественным, поскольку радиочувствительность априори есть функция физиологического состояния организма в момент облучения. Затруднения возникают при попытке понять, почему сопряженная термическая нагрузка ослабляет радиационный эффект. Рациональное объяснение подобному явлению удастся найти, допустив, что влияния радиации и тепла на биохимические показатели в значительной мере опосредуются [5]. Это допущение отнюдь не выглядит бездоказательным, в пользу справедливости такой гипотезы со всей убедительностью говорит отмеченная выше неупорядоченность дозовых зависимостей, отсутствие аддитивности частных эффектов членов комбинаций, особенности постэкспозиционного поведения АТА и ККА.

Признание косвенного характера реализации использованных воз-

действий позволяет прийти к важному выводу: влияние теплового стресса на радиочувствительность ферментных систем в принципе может быть самым различным. Состояние теплового напряжения способно как усиливать постлучевой эффект или, напротив, смягчать его, так и быть нейтральным. Мы рассматривали частный случай; если взять другие энзимы или ткани, возможен иной тип взаимодействия отдельных эффектов облучения и перегревания организма. Наблюдавшееся в эксперименте «защитное» действие термической нагрузки, разумеется, нельзя экстраполировать на более высокие уровни организации биосистемы, так как патогенетическая значимость направления изменений ферментативной активности тканей не ясна.

Ленинградский государственный университет

Поступило 3.X 1977 г.

ՕՐԳԱՆԻԶՄԻ ՈՐՈՇ ՖԵՐՄԵՆՏԱՅԻՆ ՀԱՄԱԿԱՐԳԵՐԻ ՃԱՌԱԳԱՅԹԱՅԻՆ ԶԳԱՅՈՂՈՒԹՅՈՒՆԸ ԵՎ ԶԵՐՄԱՅԻՆ ՍՏՐԵՍԸ

Վ. Բ. ՄԱՏՅՈՒՇԻՉԵՎ, Վ. Բ. ՏԱՐԱՏՈՒԽԻՆ, Վ. Գ. ՇԱՄՐԱՏՈՎԱ

Ուսումնասիրվել է առնետների գերջերմացման (36° , օդի հարաբերական խոնավությունը 80—90%, 4 ժամվա ընթացքում) և β -ճառագայթման (^{85}Kr —25 կրադ+250 ռ, 2,5 կրադ+50 ռ, 3,05 կրադ+100 ռ, 4,45 կրադ+250 ռ, 7,4 կրադ+400 ռ) ազդեցությունը մաշկի ԱՏՖ-ազային և կրեատինկինազային ակտիվության վրա: Հետազոտվել է ինչպես առանձին, այնպես էլ կոմբինացված գերջերմացման և ճառագայթման ազդեցությունը՝ 5, 12, 19 և 26 օր փորձողությունից հետո: Հայտնաբերվել է, որ ընտրված տեստերում ջերմային ստրեսի վիճակը խթանող ազդեցություն ունի ֆերմենտային ակտիվության բարձրացման համար, բայց թուլացնում է կենդանիների ճառագայթման հետևանքը:

THERMAL STRESS AND RADIO-SENSITIVENESS OF SOME ORGANISM ENZYMATIC SYSTEMS

V. B. MATYUSHICHEV, V. R. TARATUKHIN, V. G. SHAMRATOVA

The influence of thermal loading (36° , relative air humidity 80—90%, 4 hours) and combined β (^{85}Kr)—X-ray irradiation of rats by the doses of 2,5 Krad+25 p, 2,5 Krad+50 p, 3,5 Krad+100 p, 4,45 Krad+250 p, 7,4 Krad+400 p separately and in combinations on ATP-ase and creatine kinase skin activity 6, 12, 19 and 26 days later after action has been studied.

It is revealed, that by the selected tests the condition of the thermal stress stimulates the increase of enzymatic activity, but reduces the consequences of animal irradiation.

Л И Т Е Р А Т У Р А

1. Горюшинский С. М., Бавро Г. В., Перфилова Е. М., Плетенский Ю. Г., Саливан С. Г. Космическая биология и авиакосмическая медицина, 1, 73—81, 1968.

2. *Тилис А. Ю.* Гемодинамика и биохимические сдвиги при солнечно-тепловом перегревании, Ташкент, 1964.
3. *Кононов Е. И.* Автореф. канд. дисс. Архангельск, 1967.
4. *Лызлова С. Н., Тхоржевская Э. С., Аммарин И. П.* В сб.: Ферменты в эволюции животных. 3—9, М., 1969.
5. *Свердлов А. Г.* Опосредованное действие ионизирующего излучения. М., 1968.

О ЗНАЧЕНИИ УДАЛЕНИЯ ГИПОФИЗА, НАДПОЧЕЧНИКОВ В ПОСТДЕНЕРВАЦИОННЫХ ИЗМЕНЕНИЯХ ЗАЩИТНЫХ ФУНКЦИЙ РЭС И МИТОТИЧЕСКОГО ДЕЛЕНИЯ КЛЕТОК

Л. П. БЕДЖАНОВА, Р. А. ПЕТРОСЯН, Э. Д. СТЕПАНЯН

В исследованиях на белых крысах установлено, что иммунизация, неполная денервация задней конечности, а также удаление гипофиза или надпочечников по-разному изменяют защитные свойства РЭС и митотическое деление клеток. Предварительная экстирпация гипофиза, равно как и надпочечников, ослабляет эффекты иммунизации или денервации на организм.

Роль нервной и гипофизарно-надпочечниковой системы в регуляции функций и клеточных структур организма исследована недостаточно. Отсутствует единство мнений по вопросу о характере взаимоотношений указанных регулирующих механизмов в целостном организме.

Одни исследователи считают, что регуляция и интеграция функций и клеточных образований осуществляется нервной и соподчиненной ей гипофизарно-надпочечниковой системой [1—5]. Другие полагают, что гипофизарно-надпочечниковый механизм регуляции выполняется самостоятельно и независимо от нервной системы [6, 7].

Наши исследования посвящены выяснению значения удаления гипофиза или надпочечников в постденервационных изменениях защитных функций ретикуло-эндотелиальной системы (РЭС) и митотического деления клеток. Интерес к подобным исследованиям определялся прежде всего тем, что РЭС и клеточные образования являются морфо-функциональной основой формирования иммунитета, и денервация отдельных тканей, по нашим ранним наблюдениям [8], вызывает в них глубокие функциональные и структурные нарушения. При этом нам представлялось возможным, комбинируя удаление эндокринных желез с денервацией тканей, высказать определенное суждение о затронутой выше проблеме.

Материал и методика. Опыты ставились на белых крысах (120—170 г). Поглощительная способность РЭС изучалась конгорот-пробой по Адлеру и Райману [9] в модификациях Саканина [10] и Степаняна [11]. Суть ее состоит во внутривенной инъекции крысам раствора конгорот (0,2%, 0,4 мл/100 г) и определении его концентрации в сыворотке крови, полученной через 4 и 30 мин. Отношение концентрации красителя в сыворотке второй (30-й мин) к первой (4-х мин) порции крови, принимаемой за 100%, представляло собой так называемый конгорот-индекс. Высокий индекс указывал на угнетение, а низкий—стимуляцию фагоспособности элементов РЭС.

Антителогенез исследовался путем подкожного впрыскивания животным по 0,2 мл (2 млрд. бактериальных тел на физиологическом растворе) убитой бруцеллезной куль-

гуры из штамма № 19 и последующего выявления в сыворотке крови антител реакций агглютинации (РА).

Известным цитологическим методом определялась митотическая активность клеток селезенки и костного мозга обеих задних конечностей белых крыс. Неполная денервация правой задней конечности у наркотизированных эфиром крыс производилась перерезкой седалищного (п. ischiadicus) и бедренного (п. femoralis) нервов. У обездвиженных таким же образом крыс оба надпочечника удалялись принятым хирургическим способом, а гипофиз--трансаурикулярно [12].

Для идентификации условий опытов сочетанные воздействия (экстирпация железы, иммунизация, денервация конечности) на организм производились одновременно. Функциональные и цитологические показатели иммуногенеза снимались до и в различное время после соответствующих воздействий на организм. Всего было поставлено 12 серий опытов.

Послеоперационные воспалительные процессы проявлялись только при удалении надпочечников, поэтому в таблице в качестве контроля приводятся лишь данные о ложной адреналэктомии.

Результаты и обсуждение. Как следует из таблицы, иммунизация белых крыс бруцеллезным антигеном (1-я серия) синхронно возбуждает фагоспособность РЭС, антителогенез, а также митотическое деление клеток селезенки и костного мозга. Между тем неполная денервация правой задней конечности (2-я серия) значительно угнетает поглотительную функцию РЭС и своеобразно стимулирует пролиферативную активность клеток. А именно митотическая активность вначале (1-й день) повышалась в костном мозге денервированной и позднее (4-й день)—в контралатеральной конечности. К этому времени митозы нарастали и в селезенке. При совместном воздействии денервации конечности и иммунизации (3-я серия) на организм фагоспособность РЭС подавлялась, антителогенез возбуждался еще сильнее параллельно с активизацией митозов в селезенке и костном мозге.

Противоположная картина наблюдалась в опытах с гипофизэктомией белых крыс. Удаление гипофиза (4-я серия) внешне не изменяет поглотительную реакцию РЭС, однако резко снижает митотическое деление клеток. Комбинация гипофизэктомии с последующей иммунизацией (5-я серия) или денервацией конечности (6-я серия), а также с денервацией конечности+иммунизация (7-я серия) в той или иной мере устраняет обычные эффекты иммунизации или денервации на испытуемые тест-объекты. Исключение составляло резкое торможение фагоспособности РЭС в опытах гипофизэктомия+иммунизация (5 серия).

Подобное явление обнаружилось и в исследованиях на адреналэктомированных животных. Действительно, двустороннее удаление надпочечников (8-я серия) сначала (1-й день) угнетало, а потом (4-й день) нормализовало фагоспособность РЭС. Напротив, митотическая активность костномозговых клеток в первый день после адреналэктомии возрастала и к 4-му дню возвращалась к исходному уровню. Митозы в селезенке почти не изменялись. Однодневные нарушения указанных показателей обуславливались, вероятно, послеоперационным развитием воспалительного процесса.

Аналогично опытам с гипофизэктомией, предварительная адренал-

Таблица

Комбинированное влияние денервации конечности и Удаления гипофиза, надпочечников на защитные функции РЭС и митотическое деление клеток белых крыс

Серия опытов	Условия опыта	Количество животных на		Конгорот-индекс, %			Титр агглютининов	Митотическая активность клеток, %								
		фагоцитоз	антителогенез	контроль	через			4 день	контроль	костного мозга		конечностей		контроль	селезенки	
					1 день	4 дня				1 день		4 день			1 день	4 день
										левой	правой	левой	правой			
1	Иммунизация	11	6	45±1,5 (10)	37±1,5	32±1,5	1:200	1,8±0,04 (5)	2,9±0,10 (5)	3,0±0,13	3,4±0,03 (6)	3,4±0,03 (6)	0,7±0,07	1,5±0,09	1,9±0,07	
2	Денервация правой задней конечности	7	—		58±1,9	67±1,5			1,9±0,07 (6)	2,7±0,01 (6)	2,6±0,07 (6)	3,1±0,06 (6)		0,8±0,06	1,8±0,16	
3	Денервация + иммунизация	8	5		56±2,7	61±1,5	1:400		2,6±0,13 (5)	2,9±0,09 (5)	3,2±0,11 (5)	3,0±0,12 (5)		1,3±0,11	2,2±0,14	
4	Гипофизэктомия	12	—		48±1,5	41±2,1			1,1±0,07 (6)	1,0±0,02 (6)	0,9±0,08 (6)	0,9±0,06 (6)		0,5±0,11	0,4±0,07	
5	Гипофизэктомия + иммунизация	10	6		60±2,6	75±1,9	1:160		1,2±0,02 (3)	1,3±0,02 (3)	1,4±0,09 (4)	1,4±0,09 (4)		0,5±0,03	0,4±0,02	
6	Гипофизэктомия + денервация правой задней конечности	7	—		48±0,8	44±0,7			1,4±0,07 (5)	1,4±0,11 (5)	1,5±0,07 (3)	1,4±0,06 (3)		0,3±0,06	0,4±0,06	
7	Гипофизэктомия + денервация + иммунизация	10	5		43±1,5	50±2,1	1:50		1,3±0,11 (5)	1,5±0,09 (4)	1,2±0,09 (4)	1,1±0,09 (4)		0,4±0,09	0,5±0,06	
8	Адреналэктомия	11	—	47±1,2 (10)	54±1,5	48±1,8			2,5±0,08 (3)	2,5±0,1 (3)	1,8±0,06 (4)	1,9±0,09 (4)	0,6±0,1	0,7±0,12	0,5±0,07	
9	Адреналэктомия + иммунизация	9	5		46±2,3	49±1,0	1:170		1,7±0,06 (4)	1,7±0,12 (4)	1,9±0,01 (5)	1,8±0,07 (5)		0,6±0,09	0,8±0,09	
10	Адреналэктомия + денервация правой задней конечности	7	—		50±2,0	52±2,0			2,0±0,1 (5)	2,1±0,12 (5)	1,4±0,09 (5)	1,3±0,09 (5)		0,6±0,07	1,0±0,10	
11	Адреналэктомия + денервация + иммунизация	8	6		45±1,5	48±2,1	1:100		1,7±0,06 (5)	1,8±0,06 (5)	1,6±0,06 (6)	1,7±0,03 (6)		0,6±0,11	0,6±0,07	
12	Адреналэктомия ложная	5	—		53±1,3	39±1,5			2,3±0,06 (5)	2,3±0,07 (5)	1,7±0,07 (6)	1,8±0,05 (6)				

Достоверность разницы Р колебалась в пределах $P < 0,05-0,02$. Примечание: в скобках указывается количество животных.

эктомия уменьшала или предотвращала биологические эффекты иммунизации или денервации в опытах с иммунизацией (9-я серия), денервацией конечности (10-я серия) и, наконец, с денервацией конечности + иммунизация (11-я серия).

Таким образом, результаты настоящих исследований уточнили и подтвердили достоверность ранее полученных нами данных о существенном влиянии иммунизации или денервации конечности на защитные функции РЭС и пролиферативную активность клеток. И поскольку иммунизация однонаправленно активизирует поглотительную способность РЭС, антителогенез и митотическое деление клеток, уже тогда было высказано предположение о возможности поствакцинальной стимуляции фагоспособности РЭС как за счет интенсификации деятельности макрофагов, так и увеличения их числа. При этом допускалась возможность нарастания общего количества иммунокомпетентных клеток, ответственных за выработку специфических антител. Однако подобное соотношение функциональных и цитологических показателей иммуногенеза тут же нарушалось в результате неполной денервации задней конечности. В частности, фагоспособность РЭС резко подавлялась, антителогенез несколько возбуждался одновременно с повышением митозов в селезенке и костном мозге. Очевидно, в норме у вакцинированных животных регуляция и интеграция функций и клеточных структур осуществляется преимущественно нервной системой.

Вместе с тем, анализ полученных данных убедительно свидетельствовал о неразрывной связи нервной и соподчиненной ей гипофизарно-надпочечниковой системы в регуляции функций и структур организма. Это явствовало из того факта, что предварительное удаление гипофиза или надпочечников, как правило, ослабляло или полностью предотвращало эффекты действия как иммунизации, так и денервации конечности. Можно было бы предположить, что биологическое влияние иммунизации или денервации реализуется и через посредство гипофизарно-надпочечниковой системы. В принципе не отрицая такую возможность в нормальном организме, было бы ошибочным данное представление распространять и на животных с удаленным гипофизом или надпочечниками. Ибо экстирпация той или иной эндокринной железы, помимо выключения специфической инкреторной их деятельности, приводит также к глубоким нарушениям взаимодействий между железами, оставшимися в организме. Разумеется, что все эти изменения, связанные с удалением инкреторных органов, не могут не отразиться на реактивности реагирующих систем и, в первую очередь, на высокоспециализированной и дифференцированной нервной системы. Вот почему нам представляется более правдоподобным допущение, что экстирпация гипофиза или надпочечников прежде всего понижает реактивность нервной системы с вытекающими отсюда последствиями. С этой точки зрения становится понятным, почему предварительное удаление различных эндокринных органов—гипофиза или надпочечников односторонне ослабляет или предотвращает эффекты действия иммунизации или де-

нервации конечности на защитные функции РЭС и митотическое деление клеток белых крыс.

НИИ животноводства и ветеринарии
МСХ АрмССР

Поступило 5.XII 1977 г.

ՀԻՊՈՏԻԶԻ, ՄԱԿԵՐԻԿԱՄՆԵՐԻ ՀԵՌԱՑՄԱՆ ԵՇԱՆԱԿՈՒԹՅՈՒՆԸ
ՌԷՍ ՊԱՇՏՊԱՆԱԿԱՆ ՖՈՒՆԿՑԻՍԱՆՆԵՐԻ ԵՎ ԲԶԻԶՆԵՐԻ
ՄԻՏՈՏԻԿ ԲԱԺԱՆՄԱՆ ՄԵՋ

Լ. Պ. ԲԵԶՋԱՆՈՎԱ. Ռ. Ա. ՊԵՏՐՈՍՅԱՆ, Է. Դ. ՍՏԵՓԱՆՅԱՆ

Հետազոտություններով հաստատվել է, որ սպիրտակ առնետների իմունացումը բրուցելոզային հակածինով միաժամանակ խթանում է ՌԷՍ-ի ֆազոակտիվությունը, հակամարմնագոյացումը, ինչպես նաև՝ փայծաղի և ոսկրածուծի բջիջների միտոտիկ բաժանումը: Նշված զուգահեռականությունը խախտվում է հետին վերջույթի ոչ լրիվ ներվազոդման դեպքում:

Հիպոֆիզի կամ մակերիկամների հեռացումը, միատեսակ իջեցնելով ընդհանուր ռեակտիվությունը, թուլացնում է իմունացման կամ վերջույթի ներվազոդման ազդեցության արդյունքները խոունոգենեզի ցուցանիշների վրա:

ON THE SIGNIFICANCE OF PITUITARY GLAND REMOVAL
AND ADRENALECTOMY IN POST-DENERVATIONAL CHANGES
OF RES-PROTECTIVE FUNCTIONS AND MITOTIC CELL DIVISION

L. P. BEDJANOVA, R. A. PETROSYAN, E. D. STEPANYAN

It was experimentally determined that immunization of white rats with brucellar antigen stimulated simultaneous phagocytosis of RES, antibody formation and mitotic cell-division of spleen and bone marrow.

The indicated parallelism was disturbed when the hind legs of animals were incompletely denervated. Removal of pituitary glands or both the adrenals uniformly reduced the general reactivity, and, as a result, the effect of immunization or denervation of hind legs on indices of immunogenesis weakened.

Л И Т Е Р А Т У Р А

1. Алов И. А. Очерки физиологии митотического деления клеток. М., 1964
2. Епифанова О. Е. Гормоны и размножение клеток. М., 1965.
3. Moberg G. R. Amer. J. Physiol., 220, 2, 397—400, 1971.
4. Gann Donald S. Amer. J. Physiol., 221, 4, 1971.
5. Тонких А. В. Гипоталамо-гипофизарная область и регуляция физиологических функций организма. М—Л., 1965.
6. Gistler R. R. Psychother. and Psychosom., 23, 1—6, 197—200, 1974.
7. Schapiro S. Endocrinology, 72, 5, 836—837, 1963.
8. Степанян Э. Д., Петросян Р. А., Беджанова Л. П. Биологический журнал Армении, 6, 1977.
9. Adler H., Reitman F. Exper. Medizin, 47, 5—6, Berlin, 1925.
10. Саканян С. Ш. Докт. дисс., Ереван, 1950.
11. Степанян Э. Д. Лабораторное дело, 2, 25—28, 1963.
12. Федотов В. П., Баграмян Э. Р., Алешина Л. В. Проблемы эндокринологии, 2, 102, 1971.

УДК 591.147.6 612.015.31:616.001.17

ПЕРЕРАСПРЕДЕЛЕНИЕ МИКРОЭЛЕМЕНТОВ В ПЕЧЕНИ
ПОД ВЛИЯНИЕМ ТЕРМИЧЕСКОЙ ТРАВМЫ У ИНТАКТНЫХ
И АДРЕНАЛЭКТОМИРОВАННЫХ КРЫС

Г. Л. ПОЛОНСКАЯ

Приводятся результаты исследования содержания и перераспределения микроэлементов в печени, ее ядерных и митохондриальных структурах у животных с термической травмой в условиях нормального и нарушенного гормонального статуса.

Полученные данные свидетельствуют о роли кортикостероидных гормонов в изменении уровня содержания и перераспределении минеральных элементов печени при ожоговом поражении.

Ожоговая травма вызывает значительные изменения в содержании и перераспределении минеральных элементов в органах и тканях [1, 2]. В настоящее время нет разногласий в вопросе о влиянии термического ожога на регулирующие системы, в частности на адреналовые железы [3—6]. Этим железам отводится важное место в регуляции минерального обмена [7, 8]. Работ о связи гормонального статуса с наблюдаемыми сдвигами в минеральном балансе при ожоговой болезни в доступной литературе мы не встретили. Разрешение данного вопроса может иметь не только теоретическое, но и практическое значение, ибо откроет определенные возможности целенаправленной регуляции компенсаторных и восстановительных процессов путем применения соответствующих гормональных препаратов. В указанном аспекте значительный интерес представляют стероидные гормоны, так как установлено, что ожоговая травма вызывает выраженные изменения функциональной активности надпочечников, а также нарушения в регуляции минерального обмена.

Материал и методика. Опыты проводились на половозрелых беспородных белых крысах-самцах.

Тест-объектом для изучения минерального баланса служила печень и ее субклеточные структуры, что обусловлено первостепенной ролью печени в минеральном обмене [9, 10] и ранним вовлечением ее в патологический процесс [11—13].

Двустороннее удаление надпочечников проводилось через разрез в поясничной области под эфирным наркозом. Оперированные животные содержались на обычном рационе с заменой питьевой воды 0,1-процентным раствором хлористого натрия. Адреналэктомированные крысы признавались годными к эксперименту на 5-й день после операции. Печень извлекалась после декапитации животных. Субклеточные структуры (ядра и митохондрии) выделялись из 10% гомогената печени в 0,25 М сахарозе методом дифференциального центрифугирования. Исследования проводились в пери-

оды, соответствующие определенным стадиям ожоговой болезни: 1, 7 и 14 сутки после нанесения ожога. Стандартный ожог, соответствующий III степени, наносился на спинно-боковой участок, площадью, составляющей 10% поверхности тела. Определение минеральных элементов (Fe, Mg, Mn, Cu, Zn, Ti) производилось методом спектрального анализа в модификации Айдиняна [14]. Полученные результаты выражаются в условных единицах: отношение значения плотности почернения линии исследуемого элемента к значению линии внутреннего стандарта (0,1% раствор ванадия, 0,1 мл/4 г свежей ткани). Указанный метод в отличие от химико-аналитических предназначен именно для решения задач биологического порядка, ибо дает возможность выявить статистически достоверные сдвиги в пределах обычно наблюдаемых (физиологических) колебаний в содержании элементов. Критерием оценки, следовательно, являются не весовые категории, а сравнение с распределением соответствующего элемента при иных состояниях организма.

Результаты и обсуждение. Как видно из табл. 1, ожоговая травма вызывает достаточно выраженные изменения в содержании микроэлементов цельной печеночной ткани. За исключением Ti изменяется уровень всех изучаемых элементов, однако направленность этих изменений и сроки их появления различны. Так, через сутки после травмы отмечается повышение уровня Fe и Zn при одновременном снижении Mg и Cu. На 7-е сутки картина несколько изменяется: содержание Mn снижается, Zn по-прежнему остается на высоком уровне, продолжается снижение уровня Cu. Изменения Fe и Mg, по сравнению с предыдущим сроком исследования, имеют прямо противоположную направленность, а именно концентрация Fe снижается, а Mg—повышается. К концу исследования (14 сутки) уровень большинства изучаемых элементов находится в пределах нормы. Исключение составляет Zn, накопление которого в печеночной ткани сохраняется. Таким образом, в цельной печеночной ткани термический ожог вызывает сдвиги в уровне содержания Fe, Mg, Mn, Cu, Zn с наиболее стабильными изменениями со стороны Zn.

В тех же условиях в субклеточных структурах печеночной ткани изменения носят иной характер. В ядрах печени наблюдаются лишь незначительные колебания в содержании микроэлементов в сторону увеличения или уменьшения. Единственным элементом, подверженным повышению уровня на 7-е сутки после ожоговой травмы, оказался Zn. Иными словами, минеральный состав ядер печеночной ткани оказывается весьма стабильным к действию термического фактора.

Этого нельзя сказать в отношении других изучаемых субклеточных структур—митохондрий. Как видно из таблицы, содержание Mg, Cu, и Zn четко реагирует на нанесение ожоговой травмы. Направленность изменений Mg и Cu сходна: в течение первых 7-ми суток содержание их достоверно снижается. В стадии токсемии происходит обеднение митохондриальных структур Zn, уровень которого снижается вплоть до последнего срока исследования.

Анализируя влияние ожоговой травмы на минеральный состав печени и ее субклеточных структур, можно заметить, что в большинстве случаев все изменения происходят на первых двух стадиях ожогового

Таблица 1

Содержание микроэлементов в цельной печеночной ткани и ее субклеточных структурах при ожоге

Объект исследования	Сутки	Fe	Mg	Mn	Cu	Zn	Ti
		(условные единицы)					
Контроль		$0,39 \pm 0,03$	$0,72 \pm 0,06$	$0,61 \pm 0,05$	$1,56 \pm 0,14$	$0,42 \pm 0,04$	$0,47 \pm 0,05$
Печень	1	$0,50 \pm 0,02^*$	$0,52 \pm 0,04^*$	$0,72 \pm 0,03$	$1,07 \pm 0,12^*$	$0,65 \pm 0,06^*$	$0,53 \pm 0,05$
	7	$0,24 \pm 0,01$	$0,94 \pm 0,07^*$	$0,46 \pm 0,04^*$	$0,98 \pm 0,09^*$	$0,57 \pm 0,04^*$	$0,60 \pm 0,05$
	14	$0,30 \pm 0,03$	$0,88 \pm 0,06$	$0,49 \pm 0,03$	$1,80 \pm 0,15$	$0,60 \pm 0,05^*$	$0,56 \pm 0,03$
Контроль		$0,39 \pm 0,02$	$0,76 \pm 0,07$	$0,40 \pm 0,05$	$1,17 \pm 0,09$	$0,74 \pm 0,03$	$0,53 \pm 0,05$
Ядра	1	$0,44 \pm 0,04$	$0,84 \pm 0,06$	$0,49 \pm 0,05$	$1,06 \pm 0,10$	$0,43 \pm 0,05$	$0,50 \pm 0,07$
	7	$0,45 \pm 0,03$	$0,89 \pm 0,05$	$0,47 \pm 0,05$	$1,24 \pm 0,13$	$0,47 \pm 0,05^*$	$0,48 \pm 0,03$
	14	$0,40 \pm 0,02$	$0,81 \pm 0,07$	$0,46 \pm 0,04$	$1,32 \pm 0,11$	$0,28 \pm 0,01$	$0,60 \pm 0,07$
Контроль		$0,56 \pm 0,06$	$0,59 \pm 0,04$	$0,67 \pm 0,05$	$1,50 \pm 0,12$	$0,47 \pm 0,03$	$0,51 \pm 0,05$
Митохондрии	1	$0,63 \pm 0,06$	$0,43 \pm 0,04^*$	$0,75 \pm 0,05$	$0,95 \pm 0,07^*$	$0,40 \pm 0,03$	$0,43 \pm 0,02$
	7	$0,46 \pm 0,04$	$0,46 \pm 0,03^*$	$0,80 \pm 0,07$	$1,02 \pm 0,09^*$	$0,34 \pm 0,02^*$	$0,42 \pm 0,05$
	14	$0,59 \pm 0,06$	$0,61 \pm 0,06$	$0,61 \pm 0,05$	$1,35 \pm 0,13$	$0,22 \pm 0,02^*$	$0,56 \pm 0,06$

* Достоверные различия.

болезни (1-е и 7-е сутки). К концу исследования уровень почти всех изучаемых элементов находится в пределах физиологических колебаний. Исключение составляет Zn, содержание которого в цельной печеночной ткани в этот период повышено, а в митохондриях—снижено. Минеральный состав субклеточных структур, в особенности ядер, более устойчив к действию ожога, чем цельной печеночной ткани. Снижение содержания в цельной печеночной ткани Cu и Mg, очевидно, в некоторой степени связано с обеднением ее митохондриальных структур этими компонентами. Изменение уровня остальных микроэлементов в цельной печеночной ткани, надо полагать, обусловлено изменением их содержания в крови, тканевой жидкости, цитоплазме.

В условиях адrenaлэктоми ожоговая травма также вызывает значительные изменения в содержании неорганических элементов в печени и ее структурах (табл. 2). В цельной печеночной ткани наблюдается общая закономерность в изменении всех исследуемых элементов. Уже через сутки после термической травмы отмечается достоверное снижение содержания микроэлементов почти в два раза. В стадии токсемии изменения имеют ту же направленность, но еще более выражены. К 14-м суткам содержание исследуемых элементов повышается, и в уровне Mg, Mn, Cu не обнаруживается достоверных различий с контрольной группой. Содержание же Fe, Zn и Ti по-прежнему остается низким. Сравнивая результаты опытов на адrenaлэктомированных и интактных животных, можно отметить существенные различия, вызванные, очевидно, нарушением гормонального баланса в момент нанесения травмы и в период развития болезни. Наиболее существенны эти различия в начальный период и в период токсемии.

У адrenaлэктомированных животных весьма значительные колебания минерального баланса выявлены в ядерных структурах, чего не наблюдалось у животных с интактными надпочечниками. В начальной стадии болезни отмечается достоверное снижение Cu, Zn, Ti. Через 7 суток после поражения снижение этих элементов прогрессирует, ядра обедняются Fe и Mn, происходит накопление Mg. На 14-е сутки содержание всех изучаемых элементов оказывается в пределах физиологических колебаний. Следовательно, в ядерных структурах изменения в содержании микроэлементов достигают наибольшего развития к 7-м суткам. Сравнительный анализ указывает на абсолютное несоответствие изменений в двух группах исследований. Отмеченная нами устойчивость минерального состава ядерной фракции печени к ожоговой травме у животных с сохраненными надпочечниками, сменяется его значительной чувствительностью в условиях искусственно вызванного гипокортицизма.

В митохондриях печеночной ткани адrenaлэктомированных животных также обнаруживаются значительные изменения в содержании минеральных элементов при ожоговой травме. В начальной стадии наблюдается только снижение Cu и Ti, но к 7-м суткам снижается содержание Fe и Zn и повышается Mg. К концу наблюдения (14 сутки)

Таблица 2

Содержание микроэлементов в печени и ее субклеточных структурах у адреналэктомированных животных с ожоговой травмой

Объект исследования	Сутки	Fe	Mg	Mn	Cu	Zn	Ti
		(условные единицы)					
Контроль		0,39±0,04	0,65±0,05	0,51±0,03	1,46±0,12	0,48±0,02	0,42±0,05
Адреналэктомированные	6	0,36±0,05	0,86±0,06*	0,46±0,05	0,62±0,05*	0,29±0,05*	0,33±0,06
Печень	1	0,22±0,01*	0,46±0,06*	0,30±0,04*	0,86±0,10*	0,27±0,01*	0,25±0,04*
	7	0,18±0,01*	0,23±0,03*	0,28±0,04*	0,57±0,07*	0,18±0,009*	0,13±0,01*
	14	0,27±0,03*	0,52±0,06	0,45±0,06	0,17±0,13	0,36±0,04*	0,28±0,01*
Контроль		0,37±0,03	0,60±0,05	0,42±0,05	1,10±0,09	0,41±0,03	0,43±0,05
Адреналэктомированные	6	0,38±0,07	0,68±0,09	0,31±0,04*	1,15±0,15	0,30±0,04*	0,29±0,04*
Ядра	1	0,29±0,03	0,71±0,09	0,51±0,06	0,77±0,06*	0,23±0,03*	0,24±0,03*
	7	0,25±0,02*	0,78±0,07*	0,22±0,02*	0,48±0,05*	0,18±0,01*	0,23±0,02*
	14	0,42±0,05	0,74±0,08	0,47±0,06	0,86±0,11	0,34±0,05	0,31±0,03
Контроль		0,42±0,03	0,56±0,05	0,63±0,05	1,67±0,13	0,53±0,04	0,46±0,05
Адреналэктомированные	6	0,47±0,08	0,43±0,4*	0,55±0,05	0,95±0,07*	0,41±0,06	0,43±0,07
Митохондрии	1	0,47±0,05	0,63±0,05	0,72±0,07	0,85±0,06*	0,46±0,04	0,24±0,04*
	7	0,24±0,02*	0,74±0,05*	0,76±0,06	0,45±0,02*	0,35±0,03*	0,28±0,02*
	14	0,25±0,01*	0,68±0,09	0,74±0,08	0,78±0,09*	0,57±0,05	0,33±0,04

* Достоверные различия.

уровень большей части элементов возвращается к контрольным показателям, и только содержание Fe и Cu по-прежнему низкое. Таким образом, в митохондриях также проявляется иной характер реакции минерального состава на ожоговую травму в зависимости от исходного гормонального статуса. В то же время необходимо отметить, что направленность изменений в основном одинакова у интактных и адреналэктомированных животных (за исключением Mg), различия касаются времени возникновения изменений и степени их выраженности. В целом у адреналэктомированных животных изменения в митохондриях носят более глубокий характер.

Таким образом, ожоговая травма у адреналэктомированных крыс вызывает существенные нарушения минерального баланса как в цельной печеночной ткани, так и в ее субклеточных структурах. Наибольшие изменения в содержании микроэлементов происходят в цельной ткани и выражаются значительным снижением всех компонентов в начале поражения и в период токсемии. Надо полагать, что в определенной мере это снижение обусловлено обеднением субклеточных структур данными элементами.

Для выяснения насколько вышеизложенные изменения определяются отсутствием самих адреналовых желез были поставлены контрольные опыты на адреналэктомированных животных. Как видно из табл. 2, на 6-ой день после операции в цельной печеночной ткани отмечается повышение Mg с одновременным снижением Cu и Zn. Этот факт позволяет считать, что снижение Mg в печеночной ткани адреналэктомированных животных с ожоговой травмой объясняется действием термического фактора, ибо ожог сам по себе вызывает аналогичные сдвиги. В ядерных структурах наблюдается снижение уровня Mn, Zn, Ti, а в митохондриях—Mg и Cu. В митохондриальных фракциях изменения Mg в ту или иную сторону при нанесении ожоговой травмы животным, лишенным надпочечников, связано, очевидно, с сочетанным влиянием на организм адреналэктомии и ожога, так как изолированное их воздействие обуславливает совершенно иную реакцию указанного элемента.

Полученные данные показывают, что отсутствие надпочечников меняет характер сдвигов минеральных элементов у животных с ожоговой травмой во всех объектах исследования, и особенно это относится к ядерным структурам. Можно предположить, что более глубокие изменения у адреналэктомированных животных при указанном воздействии на организм связаны с исключением стероидных гормонов, как одного из регулирующих звеньев минерального баланса.

ՄԻԿՐՈԷԼԵՄԵՆՏՆԵՐԻ ՏԵՂԱՇԱՐԺԵՐԸ ԶԵՐՄԱՅԻՆ
ԱՆՏԱՀԱՐՄԱՆ ԺԱՄԱՆԱԿ ԻՆՏԱԿՏ ԵՎ ԱԴՐԵՆԱԼԷԿՏՈՄԻԱՅԻ
ԵՆԹԱՐԿՎԱԾ ՍՊԻՏԱԿ ԱՌՆԵՏՆԵՐԻ ՄՈՏ

Գ. Լ. ՊՈԼՈՆՍԿԱՅԱ

Ուսումնասիրվել են միկրոէլեմենտների տեղաշարժերը լյարդի հյուսվածքում և նրա ենթաբջջային կառուցվածքներում՝ ապիտակ առնետների ջերմային ախտահարման և օրգանիզմի նախապես փոփոխված կորտեկոստերոիդային բալանսի պայմաններում:

Ստացված տվյալները թույլ են տալիս եզրակացնելու, որ ադրենալ գեղձերի բացակայությունը նշանակալից չափով փոխում է միկրոէլեմենտների ռեակցիան ուսումնասիրված հյուսվածքներում: Միկրոէլեմենտների քանակի ավելի արտահայտված և յուրահատուկ փոփոխություններ առավելապես նկատվում են ջերմային ֆակտորի և ադրենալէկտոմիայի զուգակցված ազդեցության ժամանակ:

REDISTRIBUTION OF MICROELEMENTS IN LIVER UNDER
THE INFLUENCE OF THERMAL INJURIES IN INTACT
AND ADRENALECTOMIZED RATS

G. L. POLONSKAYA

The results of research of redistribution of microelements in liver, its nuclear and mitochondrial structures in animals with thermal injuries depending on the normal and abnormal hormonal status are brought out in the paper.

The adrenal gland role question in the regulation of mineral exchanges is discussed.

Л И Т Е Р А Т У Р А

1. Мовшев Б. Е. Пат. физиол. и эксп. терапия, 7, 2, 58—62, 1963.
2. Строев А. Е. Мат-лы юбил. научн. сессии Иваново-Франковского мед. ин-та, 74—76, Киев, 1968.
3. Markley K., Vocanegra M., Ghiappori M., Morales G. Surgery, 47, 3, 389—398, 1960.
4. Беляев В. Е. Автореф. канд. дисс., Л., 1963.
5. Колкер И. И., Усванова И. Я., Букатян А. Ф. ДАН СССР, 179, 1, 242—244, 1968.
6. Пугачев А. Д. Научная конф. по пробл. «Ожоги», 2, 98—99, ВМСЛА, Л., 1967.
7. Ворошиловская С. П. Пробл. эндокрин. и гормонотерапии, 9, 2, 15—17, 1963.
8. Evans G. W., Wlederanders R. E. Am. J. Phystol. 214, 5, 1152—1154, 1968.
9. Бала Ю. М., Лифшиц В. М., Мазуха С. В. Тез. секц. сообщ. 2-й Всес. биохим. съезда Секц. 13, 39—40, Ташкент, 1969.
10. Айзман Р. И., Пантюхин И. В., Тернер А. Я. Мат-лы 5-й научн. конф. физиол., биохим., фармак. Зап.-Сиб. объединения, 2, 3, Гомск, 1973.
11. Втюрин Б. В. Автореф. канд. дисс., М., 1965.
12. Сосновская Т. Ф. Бюлл. эксп. биол. и мед., 64, 9, 54—56, 1963.
13. Artursson G. Acta Chir. Scand., 120, 5, 309—317, 1961.
14. Айдинян Р. А. Сб. кафедры суд. мед., 69, Ереван, 1961.

К ВОПРОСУ О ТРАНСФОРМАЦИИ АДРЕНЕРГИЧЕСКИХ РЕЦЕПТОРОВ ПОД ДЕЙСТВИЕМ ТЕМПЕРАТУРЫ

О. М. АВАКЯН, О. С. НОРАВЯН

В опытах на наркотизированных крысах изучено влияние α -адреноблокаторов и метаболитических ядов на положительные хронотропные эффекты изадрина и норадреналина в норме и при понижении температуры тела животных.

Уменьшение положительного хронотропного эффекта изадрина и норадреналина, наступающее при понижении температуры тела крыс, не обусловлено трансформацией β -адренорецепторов сердца в α -адренорецепторы или понижением гликогенолиза и окислительного фосфорилирования.

В опытах на изолированном сердце амфибий и млекопитающих положительный инотропный и хронотропный эффект адреналина и норадреналина при низких температурах окружающей среды блокируется α -адреноблокаторами, а при высоких— β -адреноблокаторами [1—4]. На основании такой реципрокной активности блокирующих препаратов Никкерсон выдвинул предложение о существовании единого адренергического рецептора, характер (α или β -типа) которого находится в тесной зависимости от температуры [3, 5].

В опытах на наркотизированных крысах мы показали, что положительный хронотропный эффект изадрина и норадреналина зависит от температуры тела животных: сильно выражен при высоких температурах и подавлен—при низких [6]. Нашей задачей было выяснение, является ли это следствием взаимопревращения адренорецепторов (так называемой трансформации β -адренорецепторов в α -адренорецепторы).

Материал и методика. Опыты проводили на 65 наркотизированных крысах (200—300 г). Регистрировали частоту сердцебиений и артериальное давление при различных температурных режимах по описанной ранее методике [6, 7].

В первой серии опытов изучали влияние α -адреноблокаторов необратимого типа—феноксисбензамина и дибенамина на положительный хронотропный эффект изадрина и норадреналина. Поддерживая температуру тела на постоянном уровне (37°,5), наркотизированным крысам внутривенно вводили феноксисбензамин или дибенамин и через 2 мин проверяли действие изадрина и норадреналина на частоту сердцебиений и артериальное давление. Затем у части животных (контрольная группа) через 60—90 мин повторно проверяли эффект изадрина и норадреналина. У другой части животных (опытная группа) эффект катехоламинов регистрировали при снижении температуры до 31° (на 60-й мин) и последующем ее повышении до 37°,5 (на 90-й мин).

Во второй серии опытов изучали действие метаболитических ядов—моноидоуксусной кислоты и динитрофенола в максимально переносимых дозах на положительный хронотропный эффект изадрина. Температура тела животных поддерживалась на посто-

янном уровне (37°,5). Все препараты вводили в бедренную вену. Изадрин гидрохлорид и норадреналин гидрогартарат (Харьковский химзавод) вводили в дозе 0,5 мг/кг, феноксibenзамин (фирмы СКФ)—2,5 мг/кг, 3,4-динитрофенол (фирмы Сигма)—5 мг/кг, моноiodуксусную кислоту (Ереванский завод химреактивов) и дибенамин (ресинтезирован в ИТОХ)—25 мг/кг.

Результаты и обсуждение. Действие α -адреноблокаторов необратимого типа—феноксibenзамина и дибенамина на положительный хронотропный эффект изадрина и норадреналина при различных температурных режимах.

Как видно из данных, приведенных в таблице, у контрольной группы животных феноксibenзамин и дибенамин уже на 2-й мин после введения в дозах, достаточных для выраженного блокирования прессорного эффекта норадреналина, вызывают уменьшение положительного хронотропного эффекта изадрина и норадреналина. Эти данные до конца опыта (90 мин) практически остаются без изменений. У опытной группы животных понижение температуры тела до 31° приводит к резкому подавлению положительного хронотропного эффекта указанных веществ. Однако при последующем повышении температуры тела животных (на 90-й мин) изадрин и норадреналин снова проявляют характерное для них положительное хронотропное влияние.

Действие метаболических ядов—моноiodуксусной кислоты и 3,4-динитрофенола на положительный хронотропный эффект изадрина. Как видно из рисунка, оба метаболических ядра в максимально переносимых дозах не приводят к достоверному изменению положительного хронотропного эффекта изадрина (рис.).

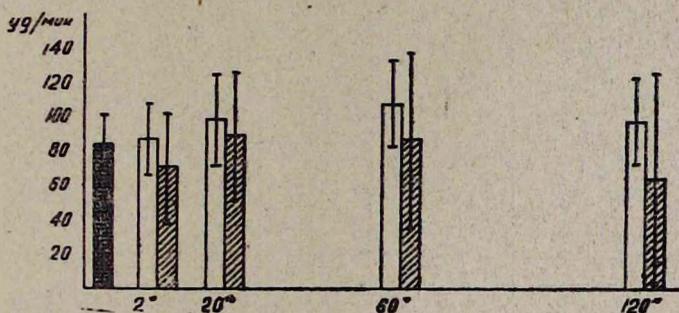


Рис. Положительный хронотропный эффект изадрина в контроле (черный столбик) и на фоне динитрофенола (белые столбики) и моноiodуксусной кислоты (заштрихованные столбики).

В последние годы процесс взаимопревращения α - и β -адренорецепторов под действием температуры стал предметом интенсивных исследований [3—5]. Одним из основных доказательств существования этого процесса является тот факт, что необратимый α -адреноблокатор феноксibenзамин в опытах на изолированном сердце лягушки не оказывает влияния на положительный хронотропный эффект адреналина при комнатной температуре и блокирует этот эффект при 14—15° [3].

Таблица 1

Действие феноксбензамина (2,5 мг/кг) и дибенамина (25 мг/кг) на эффект изадрина и норадrenalина при различной температуре тела животных

Используемый адреноблокатор	Температура тела животного	Количество животных	Время после введения адреноблокатора, мин	Положительный хронотропный эффект изадрина, % к исходному	Эффект норадrenalина, % к исходному	
					положительный хронотропный	прессорный
Феноксбензамин	контрольная	9	2	82,7 (51,6÷113,8)	74,8 (46,5÷103,1)	12,4 (3÷21,8)
			60	78,7 (56,8÷100,6)	74,4 (40,4÷108,4)	12 (-1,2÷25,2)
			90	76,4 (41,8÷111)	81 (40÷122)	18 (2,5÷33,5)
	опытная	10	2	85,7 (53,4÷118)	86,5 (62,5÷110,5)	17,2 (5,9÷28,5)
			60	6,0 (2,8÷9,2)	5,1 (4,4÷5,8)	8,3 (0,3÷17,3)
			90	75,9 (59,1÷92,7)	104,4 (78,4÷130,4)	6,9 (-3,1÷16,9)
Дибенамин	контрольная	10	2	72,5 (50,4÷94,6)	91 (71÷117)	34,3 (11,3÷57,3)
			60	60,2 (39,2÷81,2)	101 (80÷122)	14,4 (9,8÷19)
			90	59,5 (33,5÷85,5)	84,4 (53,4÷115,4)	9,2 (6,4÷12)
	опытная	10	2	82,9 (66,4÷99,4)	69,6 (49,6÷89,6)	36,4 (26,7÷46,1)
			60	5,6 (2÷9,2)	11,2 (6,6÷15,8)	7,8 (1,2÷14,4)
			90	63,8 (44,4÷83,2)	68,4 (48,9÷87,9)	11 (6,1÷15,9)

Последующее повышение температуры до исходного уровня не приводит к восстановлению утраченной реакции сердца на адреналин, т. е. заблокированные α -адренорецепторы не в состоянии обратно трансформироваться в β -адренорецепторы [3, 4]. Использование аналогичного приема в наших опытах на наркотизированных животных привело к противоположным результатам—после блокады α -адренорецепторов феноксibenзамином и дибенамином повышение температуры тела животных способствует восстановлению положительного хронотропного эффекта изадрина и норадреналина. Причина указанного расхождения наших результатов с данными Никкерсона и сотр. не установлена. Быть может, оно обусловлено тем, что показателем возбуждающего действия на β -адренорецепторы сердца в опытах Никкерсона и сотр. служил положительный инотропный эффект изадрина, а в наших—его хронотропный эффект, к тому же в условиях целостного организма. Наши результаты являются дополнением к сведениям [9], не подтверждающим представление о трансформации адренорецепторов в миокарде.

Согласно результатам, полученным нами ранее [6], а также приведенным в настоящей работе, понижение температуры тела наркотизированных крыс от $37,5^\circ$ до 31° приводит к резкому уменьшению положительного хронотропного эффекта изадрина и норадреналина.

Учитывая, что в опытах на изолированных органах нарушение гликогенолиза и окислительного фосфорилирования приводит к изменению действия катехоламинов [8], можно было предположить, что наблюдаемое нами уменьшение положительных хронотропных эффектов изадрина и норадреналина при понижении температуры животных также обусловлено нарушением метаболических процессов. Однако в использованных дозах монойодуксусная кислота и 3,4-динитрофенол не вызывали изменения положительного хронотропного эффекта изадрина, что не может служить основой для категорических суждений о значимости процессов окислительного фосфорилирования и гликогенолиза в проявлении положительного хронотропного эффекта изадрина. Дело в том, что ингибитор гликогенолиза—монойодуксусная кислота и в особенности ингибитор окислительного фосфорилирования—динитрофенол являются высокотоксичными препаратами, и в опытах на целых животных мы смогли их использовать только в дозах 25 и 5 мг/кг соответственно. Тем не менее, концентрации обоих ядов, создаваемые в наших опытах у наркотизированных крыс, сопоставимы и даже выше концентраций этих ядов, используемых для подавления окислительного фосфорилирования и гликогенолиза в опытах на изолированных органах [8]. Следовательно, полученные результаты свидетельствуют о том, что резкое уменьшение положительного хронотропного эффекта изадрина, наступающее при понижении температуры тела животных, вряд ли связано с процессами нарушения гликогенолиза и окислительного фосфорилирования.

ԱԴՐԵՆԵՐԳԻԿ ՌԵՑԵՊՏՈՐՆԵՐԻ ԶԵՐՄԱՍՏԻՃԱՆԱՅԻՆ
ՎԵՐԱՓՈԽՄԱՆ ՀԱՐՑԻ ՇՈՒՐՋԸ

Ն. Մ. ԱՎԱԳՅԱՆ, Ն. Ս. ՆՈՐԱՎՅԱՆ

Անզգայնացված 65 առնետների մոտ ուսումնասիրվել է α -ադրենոբլոկատորներ ֆենոկսիբենզամինի (2,5 մգ/կգ), դիբենամինի (25 մգ/կգ) և մետաբոլիկ թուլյների՝ յոդքացախաթթվի (25 մգ/կգ) ու դինիտրոֆենոլի (5 մգ/կգ) ազդեցությունը իզադրինի և նորադրենալինի դրական քրոնոտրոպ էֆեկտների վրա՝ նորմալում (37°,5) և կենդանիների մարմնի ջերմաստիճանի իջեցման (31°) պայմաններում:

Ստացված արդյունքները հիմք են տալիս ենթադրելու, որ առնետների մարմնի ջերմաստիճանի իջեցման հետևանքով ի հայտ եկող իզադրինի և նորադրենալինի քրոնոտրոպ էֆեկտների փոքրացումը պայմանավորված չէ սրտի ադրենոռեցեպտորների վերափոխմամբ կամ գլիկոգենոլիզի ու օքսիդաջինոն ֆոսֆորիլացման պրոցեսների իջեցմամբ:

TRANSFORMATION OF ADRENERGIC RECEPTORS
UNDER THE INFLUENCE OF TEMPERATURE

O. M. AVAKIAN, H. S. NORAVIAN

In experiments on narcotized rats the influence of α -adrenoblockers (phenoxybenzamine and dibenamine) and metabolic poisons (monolodoacetic acid and 3,4-dinitrophenol) upon the positive chronotropic effects of isoprenaline and norepinephrine have been studied at normal and reduced body temperature of animals.

The diminution of the positive chronotropic effects of isoprenaline and norepinephrine occurring during the reduction of the body temperature of rats is not due to the transformation of β -adrenoreceptors of the heart into α -adrenoreceptors or to decreased glycogenolysis and oxidative phosphorylation.

Л И Т Е Р А Т У Р А

1. Kunos G., Szentivanyi M. Nature (London), 217, p. 1077—1078, 1968.
2. Buckley G. A., Jordan C. C. Brit. J. Pharmacol., 39, 2, 391—393, 1970.
3. Nickerson M. Circulation Res., Suppl. 1 to vols. 32, 53—60, 1973.
4. Kunos G., Yong M. S., Nickerson M. Nature New Biology, 241, 108, p. 119—120, 1973.
5. Kunos G., Nickerson M. Brit. J. Pharmacol., 59, 4, 3, 606—614, 1977.
6. Авакян О. М., Норавян О. С. Биологический журнал Армении, 30, 5, 9—12, 1977.
7. Авакян О. М., Норавян О. С. Биологический журнал Армении, 29, 1, 41—46, 1976.
8. Matheny J. L., Ahlquist R. P. Arch. Int. Pharmacodyn., 218, 1, 4—10, 1975.
9. Ведерников Ю. П. Фармакол. и токсикол., 38, 1, 46—47, 1975.

АНТИБЛАСТИЧЕСКАЯ АКТИВНОСТЬ САРКОЛИЗИНСОДЕРЖАЩИХ ГОМОПОЛИПЕПТИДОВ

Б. Т. ГАРИБДЖАНЫН, А. А. ЧАЧОЯН, Ц. Е. АГАДЖАНЫН

Определялась острая токсичность и противоопухолевая активность некоторых гомополипептидных производных сарколизина. Химиотерапевтические эксперименты проводились на саркоме 45, карциноме Уокера 256 и асцитной карциноме Эрлиха.

Установлено, что все изученные соединения в сравнении с сарколизинном менее токсичны и на указанные опухолевые штаммы оказывают выраженное антибластическое действие, однако по активности уступают сарколизину.

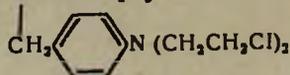
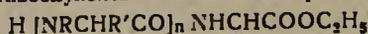
В продолжение ранее начатых работ [1, 2] в лаборатории пептидов ИТОХ АН АрмССР был синтезирован ряд N-гомополипептидных производных сарколизина [3, 4], антибластические свойства которых описываются в настоящем сообщении. В изучаемых соединениях варьировали как характер, так и конфигурацию аминокислоты, образующей полипептидную цепь. Кроме того, с целью выяснения зависимости прочности связи сарколизина с полипептидом и антибластической активностью его изучались полипептидные производные, в которых между остатками этилового эфира сарколизина и гомополипептидной цепью введены остатки различных аминокислот [5].

Материал и методика. Изучение гомополипептидных производных сарколизина проводили в сравнении с сарколизинном. Препараты вводили животным внутрибрюшинно: растворимые—в физиологическом растворе, а нерастворимые—в 0,5% растворе карбоксиметилцеллюлозы. Постановку опытов и оценку результатов осуществляли по общезвестной методике [6].

Изучение соединений начинали с определения острой токсичности препарата (ЛД₁₀₀ и МПД) на белых беспородных мышах при однократном внутрибрюшинном введении. Определение противопухолевой активности проводили на животных с саркомой 45, карциносаркомой Уокера 256 и асцитной карциномой Эрлиха. В химиотерапевтических опытах все соединения, а также являющийся контролем сарколизин, испытывали в дозах 1/20 ЛД₁₀₀ на мышах и 1/50 ЛД₁₀₀ на крысах. Использованы 921 мышь и 1054 крысы.

Результаты и обсуждение. Из табл. 1 видно, что все изученные соединения значительно менее токсичны, чем сарколизин. Так, ЛД₁₀₀ использованных соединений при однократном внутрибрюшинном введении мышам составляла от 110 до >5000 мг/кг. Токсичность их в зависимости от характера аминокислоты, образующей полипептидную цепь, значительно колебалась. Изменение конфигурации одной и той же

Токсичность и противоопухолевая активность сарколизинсодержащих гомополипептидов



№ № ц/п	R, R', конфигурация аминокислоты	Средний молекулярный вес	Растворимость в воде	ЛД ₁₀₀ , мг/кг	МПД, мг/кг	Торможение роста опухоли, Т%,			Асцитная опухоль Эрлиха	
						доза, мг/кг	саркома 45	карциносаркома Уокера 256	доза, мг/кг	СПЖ, % к контролю
1	H, изо-C ₃ H ₇ /L	1320	нр	3000	2500	100	+		250	201
2	H, изо-C ₃ H ₇ /D	1430	нр	4000	3500	100	++	++++		
3	H, н-C ₄ H ₉ /DL	2050	нр	>5000	—	100	+	±	250	125
4	H, C ₆ H ₅ CH ₂ /L	1000	нр	>5000	—	100	+	+	250	165
5	H, HBr·NH ₂ CH ₂) ₄ /L	1250	р	110	50	1,5	±	+++		
6	H, HOOCCH ₂ /L	1410	нр	750	400	15		+	37	140
7	CH ₃ , H	660	р	300	150	6	+++	++++	15	165
8	Сарколизин			30	10	0,6	+	++++	1,5	238

Примечание. Здесь и далее: (±)—торможение роста опухоли на 30%; (+)—то же на 30—59%; (++)—то же на 60—79%; (+++)—то же на 80—95%; (++++)—то же более чем на 95%; нр—нерастворимые, р—растворимые.

аминокислоты существенно не влияло на этот показатель (ср. № 1 и 2). Гибель животных от токсических доз наступала на 5—9-е сутки после введения препаратов, как и при инъекциях сарколизина.

Чувствительным штаммом опухоли оказалась асцитная карцинома Эрлиха. Особенно отличались производные поли-L-валина (№ 1), поли-L-фенилаланина (№ 4) и полисарколизина (№ 7), которые по сравнению с контролем (нелеченные животные) в 1,5—2 раза продлевали жизнь подопытных мышей. Однако на данном штамме изученные соединения по активности уступали сарколизину.

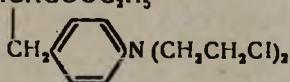
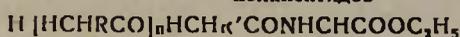
Некоторые из этих соединений на крысиных опухолях в аналогичных условиях эксперимента проявили отчетливую противоопухолевую активность. Так, производные поли-D-валина (№ 2) и полисарколизина (№ 7) проявили равную с сарколизинном активность (Т% = 95—98, $\alpha > 0,95$) на карциносаркоме Уокера и несколько превосходили сарколизин на саркоме 45 (Т% = 73—93, $\alpha > 0,95$). Остальные вещества на указанных штаммах проявили равную с сарколизинном активность или уступали ему.

На саркоме 45 полипептидильное производное D-валина (№ 2) по сравнению с производным L-валина (№ 1) проявило большую активность.

При сравнении между собой полипептидных производных сарколизина, содержащих остатки различных аминокислот между одной и той же полипептидной цепью и этиловым эфиром сарколизина (№ 1, 2 и 3—5, табл. 2), отмечались некоторые различия в противоопухолевой

Таблица 2

Токсичность и противоопухолевая активность сарколизинсодержащих полипептидов

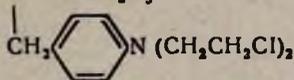
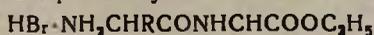


№№ п/п	R/конфигурация аминокислоты	R'/конфигурация аминокислоты	Средний молекулярный вес	Растворимость в воде	ЛД ₁₀₀ , мг/кг	Торможение роста опухоли, Т [°] /о			Асцитная опухоль Эрлиха		
						МПД, мг/кг	доза, мг/кг	саркома 45	карциносаркома Уокера 256	доза, мг/кг	СПЖ, % к контролю
1	нзо-C ₃ H ₇ /DL	CH ₃ /DL	1410	нр	>5000	—	100	0	++	250	144
2	нзо-C ₃ H ₇ /DL	н-C ₄ H ₉ /DL	1230	нр	4000	1500	80	0	+++	200	31
3	CH ₃ /DL	нзо-C ₃ H ₇ /DL	1100	нр	400	1500	8	±	+++	20	204
4	CH ₃ /DL	н-C ₄ H ₉ /DL	1040	р	300	150	6	±	+++	15	174
5	CH ₃ /DL	H	1010	р	400	100	8	++	++++	20	171
6	H	CH ₃ /DL	940	нр	900	400	18	+	++++	45	225
7	н-C ₄ H ₉ /DL	H	1450	нр	>4000	—	80	+++	++++	200	128

пой активности. Аналогичную картину наблюдали и при сравнении веществ, имеющих различную полипептидную цепь, но связанных с сарколизином одной и той же аминокислотой (ср. №1, 2, 5 с 6, 4, 7 соответственно, табл. 2).

Таблица 3

Токсичность и противоопухолевая активность дипептидов сарколизина



R/конфигурация аминокислоты	ЛД ₁₀₀ , мг/кг	МПД, мг/кг	Торможение роста опухоли, Т [°] /о			Асцитная опухоль Эрлиха	
			доза, мг/кг	саркома 45	карциносаркома Уокера	доза, мг/кг	СПЖ, % к контролю
CH ₃ /DL	40	15	0,8	++	+++	2	307
H	20	10	0,4	0	++	1	183
н-C ₄ H ₉ /DL	40	20	0,8	+	+++	2	234
нзо-C ₃ H ₇ /DL	100	40	2	+	++++	5	185

В табл. 3 приведены результаты определения токсичности и противоопухолевой активности дипептидов сарколизина [3, 4], использованных при получении соединений, приведенных в табл. 2.

Таким образом, сравнительное изучение полипептидильных производных сарколизина показало, что все они менее токсичны, чем сарколизин. Все соединения уступают сарколизину по противоопухолевой активности на указанных штаммах, кроме соединений № 2, 7 (табл. 1). При введении остатка аминокислоты между полипептидной цепью и этиловым эфиром сарколизина отмечается некоторое изменение в противоопухолевой активности.

Институт тонкой органической химии
им. А. Л. Минджояна АН АрмССР

Поступило 25.V 1977 г.

ՍԱՐԿՈԼԻՋԻՆ ԴԱՐՈՒՆԱԿՈՂ ՀՈՄՊՈԼԻՊԵՊՏԻՆԵՐԻ ԱՆՏԻՐԱՍՏԻԿ ԱԿՏԻՎՈՒԹՅԱՆ ՄԱՍԻՆ

Բ. Տ. ԳԱՐԻԲՋԱՆԻԱՆ, Ա. Ա. ՉԱՉՈՅԱՆ, Տ. Ե. ԱԳԱՋԱՆԻԱՆ

Սպիտակ ոչ ցեղային մկների և առնետների մոտ ուսումնասիրվել են սարկոլիզին պարունակող հոմոպոլիպեպտիդների թունականությունը և հակառուցքային հատկությունները:

Յուլյց է տրված, որ փորձարկված միացությունները սարկոլիզինի համեմատությամբ օժտված են թույլ թունականությամբ, բայց իրենց հակառուցքային ակտիվությամբ հիմնականում զիջում են վերջինիս:

ANTIBLASTIC ACTIVITY OF SARCOLYSINE-CONTAINING HOMOPOLYPEPTIDES

B. T. GARIBJANIAN, A. A. CHACHOYAN, Ts. E. AGHAJANIAN

The toxicity and the antiblastic activity of sarcolysine-containing homopolypeptides have been studied in white mice and rats.

It has been shown, that the investigated compounds are less toxic in comparison with sarcolysine, but they are, on the whole, inferior to the latter by their antiblastic activity.

Л И Т Е Р А Т У Р А

1. Գարիբճյան Բ. Դ., Կաչոյան Ա. Ա., Ագաճյան Ը. Ե., Ամբոյան Կ. Լ. Биологический журнал Армении, 27, 3, 113, 1974.
2. Գարիբճյան Բ. Դ., Կաչոյան Ա. Ա., Ագաճյան Ը. Ե. Биологический журнал Армении, 30, 6, 32—38, 1977.
3. Ագաճյան Ը. Ե., Ամբոյան Կ. Լ., Գարիբճյան Բ. Դ., Կաչոյան Ա. Ա. Арм. хим. журн., 25, 11, 955—962, 1972.
4. Ագաճյան Ը. Ե., Ամբոյան Կ. Լ. Арм. хим. журн., 27, 10, 896—900, 1974; там же, 28, 8, 662—666, 1975.
5. Ագաճյան Ը. Ե., Ամբոյան Կ. Լ. Арм. хим. журн., 27, 10, 890—895, 1974.
6. Чернов В. А. Методы экспериментальной химиотерапии. 357, М., 1971.

ЦИТОГЕНЕТИЧЕСКОЕ ИССЛЕДОВАНИЕ ВЛИЯНИЯ ХИМИЧЕСКИХ МУТАГЕНОВ НА БАКЛАЖАН

С. Г. МИКАЕЛЯН

Изучалось действие некоторых химических мутагенов на хромосомный аппарат меристемы корешков баклажана. Показано, что изучаемый сорт баклажана обладает высокой спонтанной мутабельностью. Не во всех случаях концентрация мутагена и процент перестроек находятся в линейной зависимости. Частота и типы хромосомных aberrаций зависят от характера мутагена. Абберантных клеток больше в вариантах с измененными в M_1 формами.

В связи с широким использованием химических мутагенов в селекции растений для повышения разнообразия исходного материала встал вопрос о детальном изучении специфичности их действия на генотип. От генотипа объекта, специфичности действия мутагена, его концентрации, экспозиции обработки и некоторых других факторов зависят частота и спектр мутаций. Об этом свидетельствуют данные, полученные исследователями на разных объектах [1—10].

Цель настоящей работы заключалась в изучении эффективности действия сравнительно низких концентраций мутагенов на хромосомный аппарат клеток меристемы корешков баклажана, поскольку опыт многих авторов показал целесообразность применения в селекции сельскохозяйственных культур низких и средних концентраций [11, 12].

Материал и методика. Объектом исследования служили растения местного сорта баклажана, Ереванский, распространенного в условиях Армянской ССР и имеющего большое хозяйственное применение. Семена замачивались в растворах метилметансульфоната (ММС), этилметансульфоната (ЭМС) и диэтилсульфата (ДЭС) 0,01-, 0,03-, 0,05- и 0,1%-ой концентрации при 18-часовой экспозиции.

Известно, что ММС, ЭМС, ДЭС в указанных концентрациях индуцируют низкий процент нарушений хромосом, а это обеспечивает выход мутантов, отличающихся полезными хозяйственными признаками.

После обработки семена прорастивались в чашках Петри. Затем корешки обрабатывались по общепринятой цитологической методике с приготовлением давленных ацетокарминовых препаратов для учета хромосомных перестроек в анафазе митоза.

Результаты и обсуждение. Частота и спектр мутаций, как показал метод цитогенетического анализа, в основном зависят от специфики цитогенетического действия мутагена и типа растений.

Испытанный сорт баклажана обладает низкой спонтанной мутабельностью. Использованные нами мутагены, как и большинство ал-

килирующих соединений, в указанных концентрациях приводят к образованию у баклажана делеций, выраженных в виде одиночных фрагментов. Однако, как видно из табл. 1, появляются также перестройки типа одиночных мостов, что говорит о происшедшей транслокации. Наши данные показывают, что процент нарушенных анафаз линейно не возрастает с увеличением концентрации мутагенов. При воздействии 0,01%-ой ЭМС наблюдается более высокий процент нарушений, чем при 0,05%-ой. Иная картина наблюдается при обработке семян ММС: самая низкая концентрация его индуцирует самый малый процент перестроек, при средних процент перестроек растет, а при самой высокой концентрации (0,1%) резко падает до 1,52. Иначе действует ДЭС: при крайних концентрациях его процент перестроек сравнительно высокий и примерно одинаковый (3,82 и 3,27). Очевидно, для каждого мутагена характерна определенная оптимальная концентрация, индуцирующая хромосомные перестройки. Так, для ДЭС оптимальной является 0,01%-ая концентрация, в то время как для ЭМС и ММС—0,03%-ая. Исследования показали, что при этом преобладают одиночные фрагменты и одиночные мосты (табл. 1).

Таблица 1
 Действие ажилирующих агентов на хромосомный набор меристемы
 корешков баклажана (M_1)

Концентрация мутагена, %	Количество анафаз	% нарушенных анафаз	Одиночные фрагменты	Парные фрагменты	Одиночные мосты	Парные мосты
Контроль	350	0,2±0,04	0,2 ±0,04	—	—	—
ЭМС						
0,01	302	3,31±1,03	1,65±0,73	—	1,65±0,73	—
0,03	382	6,28±1,24	6,02±1,22	0,26±0,26	—	—
0,05	291	1,4 ±0,68	0,34±0,34	1,03±0,59	—	—
0,1	296	4,72±1,23	3,71±1,09	—	1,01±0,2	—
ММС						
0,01	260	2,38±0,38	2,38±0,38	—	—	—
0,03	449	6,24±1,14	5,35±1,06	—	0,89±0,44	—
0,05	448	2,23±0,69	1,34±0,53	—	0,89±0,44	—
0,1	329	1,52±0,67	—	—	1,52±0,67	—
ДЭС						
0,01	307	3,82±1,09	1,91±0,78	0,64±0,45	1,27±0,64	—
0,03	318	1,7 ±0,72	—	—	1,7 ±0,24	—
0,05	283	1,08±0,61	0,54±0,44	—	—	0,54±0,5
0,1	490	3,27±0,8	1,43±0,54	1,02±0,45	0,4 ±0,28	—

Проводилось также цитогенетическое изучение меристемы корешков растений M_2 . Наблюдения показали, что абберантных клеток больше в вариантах с измененными в M_1 формами, о чем свидетельствуют приведенные в табл. 2 данные. Нагляднее это видно при сравнении измененной от 0,05%-ой ЭМС формы с неизменной, а также измененной от 0,03%-ой ММС формы с неизменной. При этом у измененных форм наблюдаются нарушения преимущественно ти-

па мостов, что свидетельствует о происшедшей транслокации. При сравнении данных таблиц замечается разница в aberrантности клеток меристемы корешков растений M_1 и M_2 . В то время как в M_1 максимальный процент перестроек составляет в зависимости от мутагена 6,28, 6,23, 3,82%, соответственно в M_2 —2,14, 1,3 и 0,87%, что, как и в опытах с другими химическими мутагенами, говорит об общей тенденции к спаду хромосомных перестроек по сравнению с годом химического воздействия. Следовательно, реализация структурных изменений хромосом, возникших под воздействием примененных концентраций алкилирующих соединений, у нашего объекта происходит непосредственно после воздействия.

Таблица 2

Действие алкилирующих агентов на хромосомный набор меристемы корешков баклажана (M_2)

Мутаген, концентрация, %	Количество анафаз	% нарушенных анафаз	Одночные фрагменты	Парные фрагменты	Одночные мосты	Парные мосты
Контроль	350	0,2 ±0,04	0,2 ±0,04	—	—	—
ЭМС						
0,01	281	3,16 ±1,04	1,4 ±0,7	0,36 ±0,36	—	1,4 ±0,7
0,03	324	2,14 ±0,8	0,61 ±0,33	0,61 ±0,33	—	0,92 ±0,5
Измененная форма						
0,05	316	3,44 ±1,03	—	—	2,58 ±0,9	0,86 ±0,02
	355	1,4 ±0,62	0,28 ±0,28	—	0,56 ±0,39	0,56
Измененная форма						
0,1	353	4,37 ±0,8	1,07 ±0,4	0,15 ±0,15	2,08 ±0,56	1,07 ±0,2
	303	1,02 ±0,58	0,73 ±0,49	—	0,3 ±0,31	—
ММС						
0,01	282	1,1 ±0,62	—	—	0,55 ±0,44	0,5
0,03	290	1,3 ±0,66	0,27 ±0,31	—	0,96 ±0,57	—
Измененная форма						
0,05	321	4,8 ±1,19	—	—	—	4,8 ±1,9
	277	2,6 ±0,95	1,3 ±0,68	—	1,3 ±0,68	—
0,1	309	1,04 ±0,58	0,52 ±0,82	—	0,52 ±0,82	—
ДЭС						
0,01	345	0,87 ±0,52	0,87 ±0,52	—	—	—
0,03	352	1,98 ±0,74	0,57 ±0,4	—	0,57 ±0,4	0,85
0,05	283	1,04 ±0,6	0,52 ±0,42	0,52 ±0,42	—	—
0,1	301	1,99 ±0,8	1,99 ±0,8	—	—	—

Исследования показали, что наибольшее число хромосомных перестроек у баклажана вызывают, из испытанных нами концентраций, 0,03%-ые растворы ЭМС и ММС. Число нарушенных анафаз не находится в линейной зависимости от дозы мутагена. Очевидно, частота и спектр хромосомных мутаций специфически зависимы от концентрации мутагена и генотипа объекта.

Ереванский государственный университет,
проблемная лаборатория цитологии

Поступило 19.XII 1977 г.

ՈՐՈՇ ՔԻՄԻԱԿԱՆ ՄՈՒՏԱԳԵՆԵՆՆԵՐԻ ԱԶԴԵՑՈՒԹՅԱՆ
ՈՒՍՈՒՄՆԱՍԻՐՈՒԹՅՈՒՆԸ ԲԱԴՐԻՋԱՆԻ ՄՈՏ

Ս. Գ. ՄԻՔԱՅԵԼՅԱՆ

Բադրիջանի սերմերը մշակվել են 0,01, 0,03, 0,05, 0,1% խտությամբ մեթիլմեթանսուլֆոնատի (ՄՄՍ), էթիլմեթանսուլֆոնատի (էՄՍ) և դիէթիլսուլֆատի (ԴէՍ) լուծույթներով 18 ժամվա ընթացքում:

Ֆիտոգենետիկական ուսումնասիրությունը, որը տարվել է բադրիջանի արմատածայրերի վրա, ցույց է տվել, որ մուտագենի կոնցենտրացիան և քրոմոսոմային խախտումների տոկոսը ոչ միշտ են ուղիղ համեմատական:

Պարզվել է, որ քրոմոսոմային վերակառուցումների տիպը և հաճախականությունը կախված են մուտագենից, նրա բնույթից: Փորձարկված կոնցենտրացիաներից ամենաարդյունավետը ՄՄՍ-ի 0,03%-անոց լուծույթն է, որը մահածոն է 6,28% քրոմոսոմային խախտում:

THE CYTOGENETIC INVESTIGATION OF THE INFLUENCE
OF CHEMICAL MUTAGENS ON EGG-PLANTS

S. G. MIKHAELIAN

MMS, EMS, DES action has been investigated on the egg-plant seeds during the 18 hour exposition.

It has been shown, that the studied variety of the egg-plant possesses low spontaneous mutability. The value of the mutagen concentration and the percentage of chromosome aberration are not always in linear dependence. The difference of the frequency and chromosome aberration types differ depending on the character of mutagen.

Л И Т Е Р А Т У Р А

1. Азатян Р. А. Биологический журнал Армении, 27, 4, 1974.
2. Бегларян Н. П., Аветисян А. В. Биологический журнал Армении, 27, 6, 1974.
3. Мартиросян С. Н., Микаелян С. Г. Биологический журнал Армении, 27, 2, 1974
4. Murty D. S., Vaidyanath K. Indian J. Exp. Biol., 12, 5, 1974.
5. Погосян В. С. и др. Биологический журнал Армении, 27, 10, 1974.
6. Погосян В. С. и др. Биологический журнал Армении, 29, 10, 1976.
7. Sanchez L. E., Leary J. V., Endo R. M. J. Genet. Microbiol., 87, 2, 1975.
8. Jana Manas K., Roy K. Mitat. Res., 28, 2, 1975.
9. Соколов В. А., Хвостова В. В. Генетика, 7, 8, 1971.
10. Логвиненко В. Ф., Шкварникова П. К. Цитология и генетика, 8, 6, 1974.
11. Енкен В. Б. Теория химического мутагенеза. М., 1971.
12. Шкварников П. К., Кулик М. И. и др. Цитология и генетика, 1, 1, 1967.

ИЗМЕНЕНИЕ ВЕЛИЧИНЫ ЭЛЕКТРОКИНЕТИЧЕСКОГО
ПОТЕНЦИАЛА ЭРИТРОЦИТОВ ПРИ РАЗВИТИИ
АСЦИТНОЙ КАРЦИНОМЫ ЭРЛИХА

С. А. ГОНЯН, Э. А. КАРАГУЛЯН, Г. А. ПАНОСЯН

Исследовано изменение ϵ -потенциала эритроцитов мышей в процессе развития асцитной карциномы Эрлиха. В динамике опухолеобразования величина потенциала меняется как вследствие появления в крови веществ, влияющих на ЭФП эритроцитов, так и в результате изменения структуры их мембран.

В последние годы накопилось большое количество данных, свидетельствующих о том, что при злокачественном новообразовании происходят серьезные изменения в структуре клеточных мембран [1—2]. Вместе с тем известно, что развитие опухоли не является локальным процессом, а затрагивает все основные системы организма и в большей мере кровь как внутреннюю среду. Особенно чувствительны к подобным изменениям эритроциты. Одним из тестов, характеризующих физико-химические свойства мембран эритроцитов, является величина электрокинетического потенциала. Для данного вида клеток ϵ -потенциал является постоянной величиной, которая меняется при патологических состояниях. Харамоненко и Ракитянской [3] было обнаружено изменение этой величины при различных формах анемии, лимфосаркомы и т. д. При этом было показано, что она зависит прежде всего от физико-химической структуры их мембран и свойств окружающей клетку среды.

Учитывая эти данные, мы провели исследование ϵ -потенциала эритроцитов в динамике опухолеобразования, результаты которого приведены в настоящей статье.

Материал и методика. Объектом исследования являлись эритроциты белых беспородных мышей, зараженных асцитной карциномой Эрлиха введением 0,2 мл асцитной жидкости внутривенно. Латентный период после прививки длился 4—5 дней. Для исследования ϵ -потенциала эритроцитов кровь бралась в остром опыте, начиная с третьего дня после заражения. Эритроциты трижды промывались физиологическим раствором (рН 7,35) и отделялись центрифугированием при 5000 об/мин. В первом варианте опытов исследовались ЭФП эритроцитов больных мышей в собственной плазме (аутоплазме), во втором—в забуференном физиологическом растворе, в третьем—инкубированных в нормальной плазме в течение 3 час. при 37°, а в четвертом—эритроцитов нормальных мышей, инкубированных в плазме больных мышей в тех же условиях. Подготовленные для опыта эритроциты помещались в электрофоретическую ка-

меру в соответствующем растворе, в которой с помощью окуляр-микрометра измерялись скорость движения клеток и по формуле $\epsilon = \frac{4\pi\eta\omega}{DE}$ вычислялась величина

потенциала (η —коэффициент вязкости дисперсной среды, ω —скорость движения клетки, D —диэлектрическая постоянная, E —градиент потенциала внешнего поля). Измерения велись при напряжении 100 вольт и силе тока 15мА. Строились графики зависимости величины ϵ -потенциала от времени развития опухоли во всех вариантах опытов.

Результаты и обсуждение. В нормальных физиологических условиях в организме состав плазмы и плотность электрического заряда форменных элементов крови постоянны. В то же время плотность заряда может зависеть от обработки эритроцитов [4]. Так, электрофоретическая подвижность промытых и непромытых эритроцитов оказывается неодинаковой. Захтлебен, Русенстрот-Бауер, Фурман [5, 6] показали, что нормальные белки плазмы крови в физиологических значе-

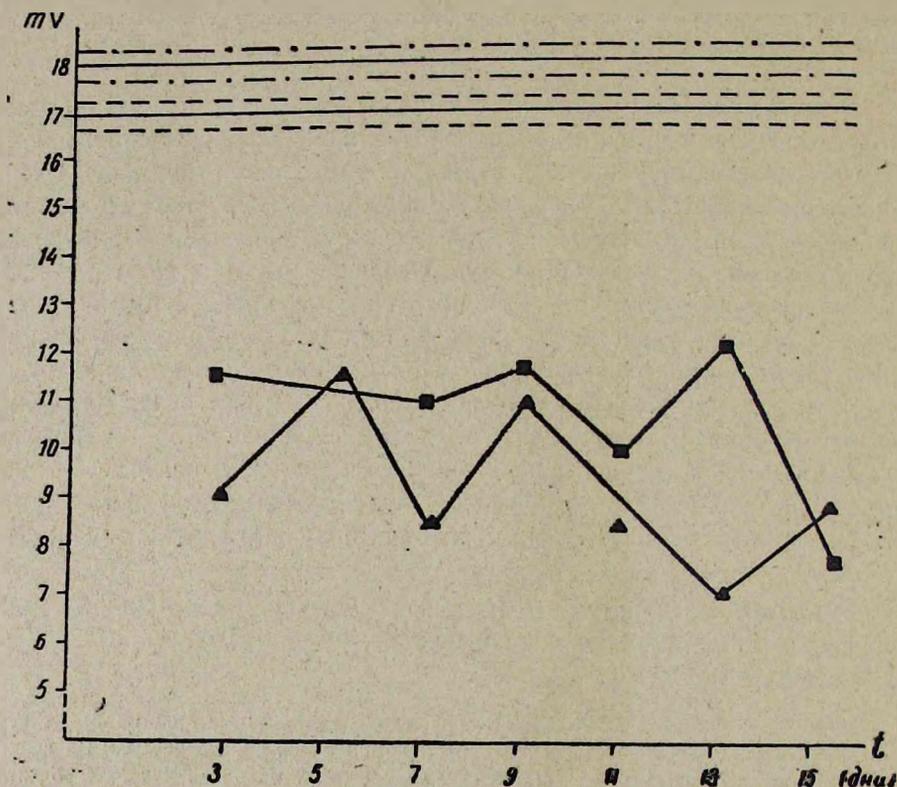


Рис. 1. Изменение величины ϵ -потенциала эритроцитов мышей, несущих асцитную карциному Эрлиха. а) эритроциты больных мышей, инкубированные в аутоплазме (▲) и в плазме здоровых мышей (■), б) эритроциты здоровых мышей в аутоплазме $\equiv \equiv \equiv$ и в физиологическом растворе $\equiv \equiv \equiv$.

ниях рН адсорбируются на эритроцитах, что влечет за собой уменьшение электрического заряда эритроцитов. Поставленные нами опыты (рис. 1) показали, что промывка эритроцитов физиологическим раство-

ром действительно приводит к некоторому повышению электрофоретической подвижности.

Харамоненко и Ракитянская [3] установили, что белковый состав суспензированной среды оказывает большое влияние на ЭФП эритроцитов: чем больше отклонение соотношения белков от нормы, тем больше изменяется электрический заряд эритроцитов. По мнению Ротипо и Ангерс [7], изменение ЭФП эритроцитов связано исключительно с адсорбцией белков на клеточной поверхности, без изменения ее структуры. Такого же мнения придерживается Шидлер [8], исследовавший ЭФП эритроцитов в застойной крови.

Изучение ЭФП эритроцитов в процессе развития асцитной карциномы Эрлиха показало, что ее величина скачкообразно меняется в течение заболевания (рис. 1). Подобный характер изменения ζ -потенциала описан Харамоненко и Ракитянской при хронических лейкозах [3]. При сравнении кривых изменения ζ -потенциала эритроцитов белых мышей в аутоплазме с таковыми в нормальной плазме (рис. 1) оказалось, что плазма нормального состава несколько повышает величину потенциала, который, однако, был значительно ниже нормы.

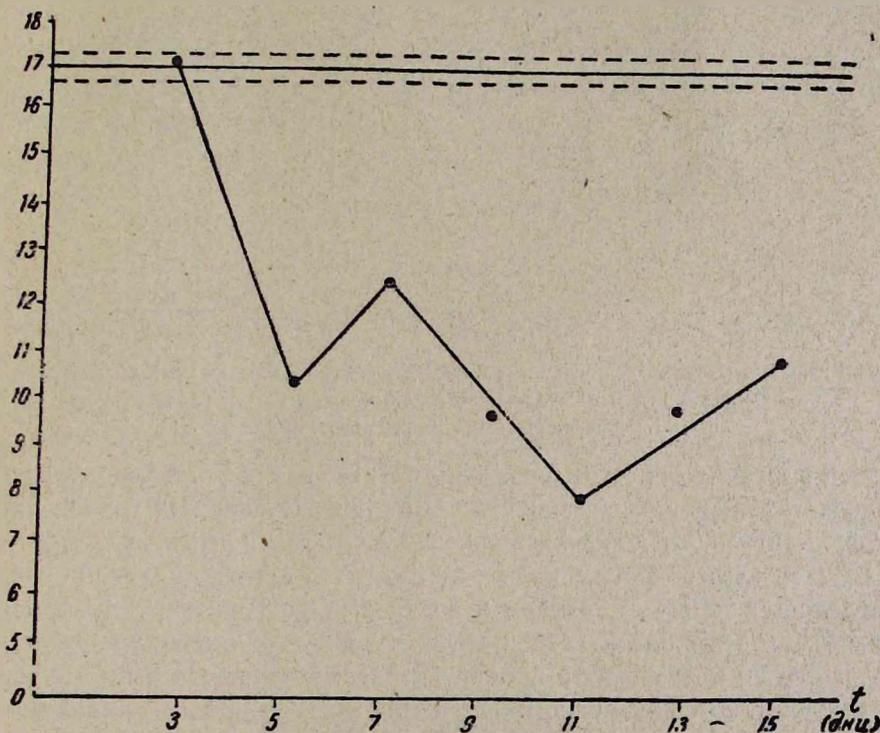


Рис. 2. Изменение величины ζ -потенциала эритроцитов здоровых мышей, инкубированных в плазме больных (●). (Здоровые эритроциты в аутоплазме ---).

При инкубировании эритроцитов здоровых мышей в плазме больных оказалось, что последняя значительно снижает величину ζ -потенциала эритроцитов здоровых мышей (рис. 2). При этом в различные

сроки заболевания влияние плазмы больных мышей различно: наибольшие изменения наблюдаются на 11-й день заболевания. Снижение ЭФП эритроцитов здоровых мышей при инкубировании в плазме больных свидетельствует о том, что действительно состав окружающей среды влияет на величину ϵ -потенциала эритроцитов.

На рис. 3, на котором дана зависимость величины ϵ -потенциала от сроков заболевания, видно, что при инкубировании эритроцитов белых

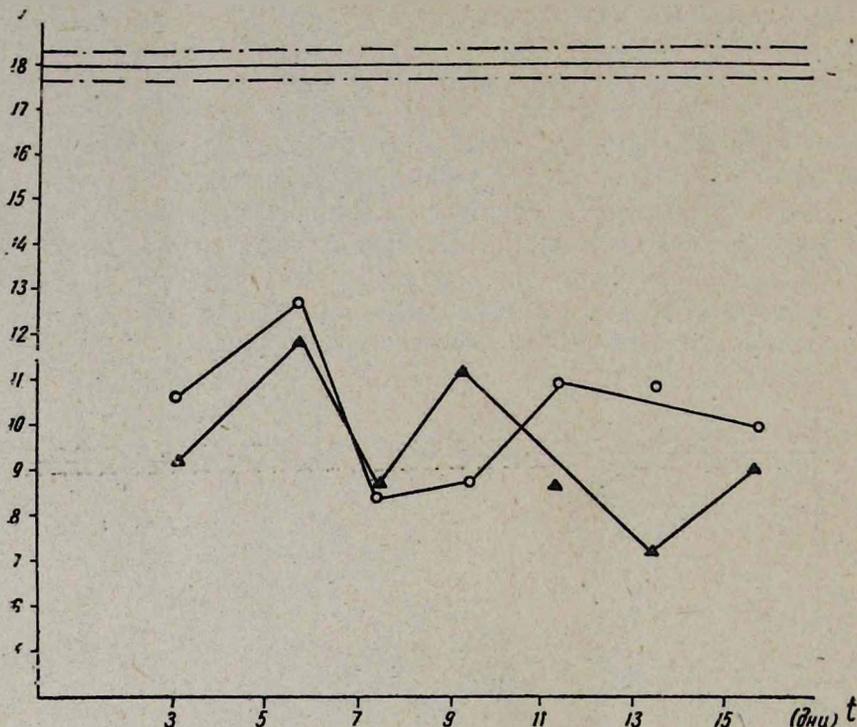


Рис. 3. Изменение величины ϵ -потенциала эритроцитов больных мышей в аутоплазме (▲) и в физиологическом растворе (○). (Здоровые эритроциты в физиологическом растворе $\approx \approx$).

мышей в физиологическом растворе, так же как и в плазме здоровых мышей, наблюдается повышение этого показателя. Из приведенных экспериментальных данных видно, что величина ϵ -потенциала зависит от состава среды, однако надо отметить, что степень влияния среды определяется также состоянием поверхности эритроцитов. Так, плазма больных мышей в значительной степени снижает ϵ -потенциал эритроцитов здоровых мышей, в то время как плазма здоровых мышей влияет на величину потенциала эритроцитов больных мышей в гораздо меньшей степени.

Из сказанного можно сделать вывод о том, что заряд эритроцитов обусловлен как окружающей их жидкой средой, так и свойствами самой мембраны.

ԷՐԻՏՐՈՑԻՏՆԵՐԻ ԷԼԵԿՏՐԱԿԻՆԵՏԻԿ ՊՈՏԵՆՑԻԱԼԻ ՄԵՄՈՒԹՅԱՆ
ՓՈՓՈԽՈՒԹՅՈՒՆՆԵՐԸ ԷՐԼԻԽԻ ԱՍՑԻՏԱՅԻՆ ԿԱՐՑԻՆՈՄԱՅԻ
ՋԱՐԳԱՑՄԱՆ ԸՆԹԱՑՔՈՒՄ

Ս. Ա. ՂՈՆՅԱՆ, Է. Ա. ԿԱՐԱԳՈՒԼՅԱՆ, Գ. Հ. ՓԱՆՈՍՅԱՆ

Աշխատանքում ուսումնասիրվել է էրլիխի ասցիտային կարցինոմայով վարակված մկների էրիտրոցիտների էլեկտրակինետիկ պոտենցիալը տարբեր միջավայրերում:

Փորձերի արդյունքները ցույց են տվել, որ էրիտրոցիտների պոտենցիալը հիվանդության ընթացքում փոխվում է, ընդ որում, այն կախված է ինչպես միջավայրից, որտեղ կատարվում են չափումներ, այնպես էլ էրիտրոցիտների մեմբրանների կառուցվածքից:

THE ERYTHROCYTE ELECTROKINETIC POTENTIAL CHANGING
DURING THE EHRlich ASCID CARCINOMA GROWTH

S. A. GONYAN, E. A. KARAGULIAN, G. A. PANOSYAN

During the exhibition of substances interfering with electrophoretic mobility of erythrocytes in blood one can detect structural changes of erythrocyte membranes as well.

Л И Т Е Р А Т У Р А

1. Бергельсон Л. Д. Биологические мембраны. М., 1975.
2. Поликар А. Поверхность клетки и ее микросреда. М., 1975.
3. Харамоненко С. С., Ракирянская А. А. Электрофорез в норме и патологии. Минск, 1974.
4. Seaman G. V. F., Kok D. A., Heard D. H. Clin. Sci., 23, 1, 115—123, 1962.
5. Sachtleben B. Cell Electrophoresis, London, 1965.
6. Ruhnstroth-Bauer G., Fuhrman S. F. Blut, 8, 8, 464—469, 1962.
7. Rottino A., Angers J. Clin. chem, 8, 6, 579—584, 1962.
8. Shideler A. Lab. Inverstig., 9, 4, 435—442, 1960.

ИЗМЕНЕНИЯ В СОСТАВЕ ВОДНОРАСТВОРИМЫХ БЕЛКОВ
КОРЫ БОЛЬШИХ ПОЛУШАРИЙ И МОЗЖЕЧКА ПРИ
СТИМУЛЯЦИИ НОРАДРЕНЕРГИЧЕСКИХ СИНАПСОВ

М. В. ХАНБАБЯН, О. А. НАЗАРЯН

Вопросы, связанные с синаптической регуляцией биосинтеза макромолекул, крайне мало исследованы. Однако изучение их очень важно для понимания таких функций мозга как обучение и память. В предыдущих наших работах было показано [1], что норадренергическая система ствола мозга, образующая синапсы на клетках различных структур мозга [2], может оказывать значительное влияние на содержание РНК и белков в нейронах.

Наша задача заключалась в выявлении отдельных белковых фракций, подвергающихся влиянию активации норадренергических синапсов. Известно, что большинство обнаруженных специфических для нервной системы белков—кислые воднорастворимые [3], поэтому первоначально нами исследовались именно эти фракции белков.

Материал и методика. Эксперименты проводились на крысах линии Вистар под уретановым наркозом. Активация норадренергических синапсов производилась электрической стимуляцией голубого пятна (*Locus coeruleus*) в течение одной минуты, при помощи стереотаксически введенного в это ядро электрода. Через сорок минут после стимуляции животные обезглавливались, выделялись кора б. п. и мозжечок. После гомогенизации и центрифугирования (2500 об/мин) водные экстракты указанных отделов мозга подвергались дисковому электрофорезу на полиакриламидном геле. Одновременно исследовался контрольный материал, взятый у интактных животных, не подвергавшихся стимуляции голубого пятна. Денситометрию окрашенных гелей проводили на микрофотометре МФ-4.

Результаты и обсуждение. В наших экспериментах наблюдались некоторые различия в составе воднорастворимых белков коры б. п. и мозжечка. Это, по-видимому, отчасти объясняется тем, что для их выделения нами использовались, в одном случае, только кора б. п., а в другом—как кора, так и белое вещество мозжечка. В норме белки водных экстрактов мозжечка подразделялись на 10—11 фракций.

Как видно из рис. 1, стимуляция голубого пятна ведет к значительным сдвигам в картине фореграмм белков мозжечка. Во всех экспериментах заметно уменьшалась фракция 4, часто при этом дробясь на 2—3 минорные фракции. Значительно увеличивалась фракция 6, а в ряде случаев, фракция 7.

Белки воднорастворимых экстрактов коры б. п. подразделялись на 13—14 фракций. Стимуляция норадренергической прецизионной системы, возникающей в голубом пятне (рис. 2), вела к изменениям, охватывающим ряд фракций коры б. п.; фракции 8—9 исчезали, 4 значительно уменьшалась. Фракции 2 и 10, в ряде случаев и 6, значительно увеличивались, причем фракция 2 подразделялась на 2—3 субъеди-

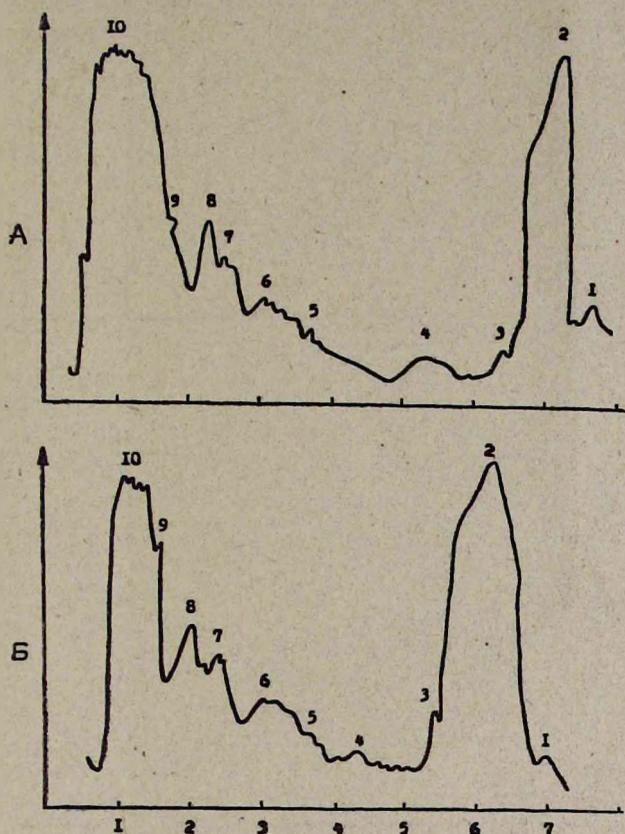


Рис. 1. Денситограммы электрофореграмм воднорастворимых белков мозжечка (А, Б). А—контрольный опыт; Б—после стимуляции голубого пятна мозга. По оси ординат—относительное поглощение; по оси абсцисс—размер геля в см. Стрелка указывает движение при электрофорезе.

ницы. Кроме того, нередко исчезала фракция 12. Таким образом, как в мозжечке, так и в коре б. п. одна белковая фракция—4 систематически значительно уменьшалась при стимуляции норадренергических синапсов, а фракция 6 в подавляющем большинстве случаев в обеих структурах—увеличивалась.

Этот факт, возможно, указывает на специфическое значение этих белковых фракций для норадренергических синаптических механизмов. Обнаруженные в настоящих экспериментах значительные сдвиги в составе воднорастворимых белков мозга ставят вопрос об их функциональном значении.

Данные о функциональной природе отдельных белков, синтез которых специфически изменяется при возбуждении или торможении нейрона, крайне скудные. Можно полагать, что в изменении проводимости возбуждения через синапсы и чувствительности постсинаптического

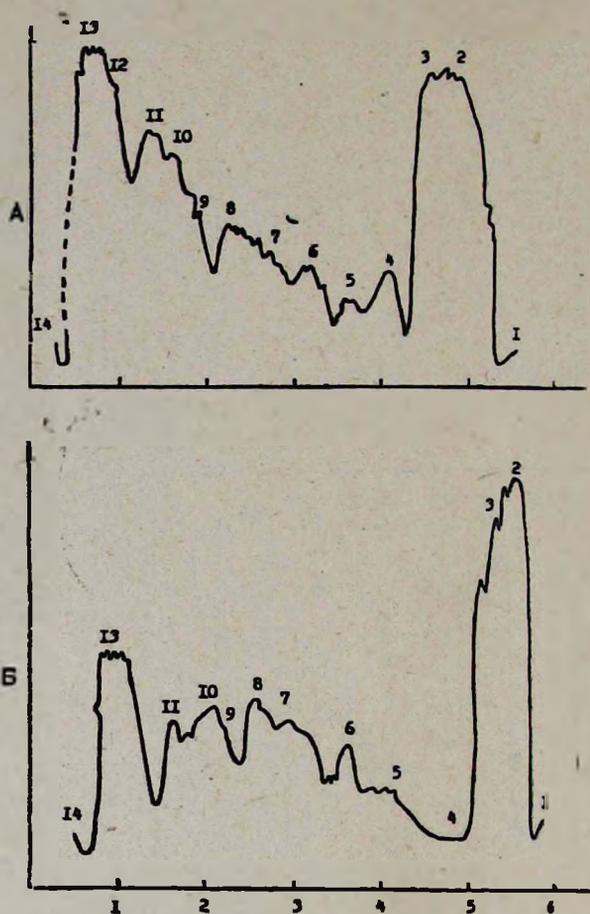


Рис. 2. Денситограммы электрофореграмм воднорастворимых белков коры больших полушарий (А, Б). А—контрольный опыт; Б—после стимуляции голубого пятна мозга. По оси ординат—относительное поглощение; по оси абсцисс—размер геля в см.

кой мембраны большую роль играют изменения в синтезе нейрональных белков, в том числе рецепторов мембран, других мембранных, а также цитоплазматических белков постсинаптического нейрона, синаптических окончаний, ферментных белков, обеспечивающих медиаторные функции [4, 5].

Нашей дальнейшей задачей является выделение выявленных отдельных фракций белков, исследование их свойств, состава, а также функционального значения.

Институт экспериментальной биологии АН АрмССР

Поступило 6.X 1977 г.

ՈՒՂԵՂԻ ՄԵԾ ԿԻՍԱԳԵՂԵՐԻ ԵՎ ՈՒՂԵՂԻԿԻ ԶՐԱՆՈՒԾ
ՍՊԻՏԱԿՈՒՑՆԵՐԻ ԿԱԶՄԻ ՓՈՓՈԽՈՒԹՅՈՒՆՆԵՐԸ ՆՈՐԱԴՐԷՆԵՐԳԻԿ
ՍԻՆԱՊՍԵՐԻ ԳՐԳՈՄԱՆ ԺԱՄԱՆԱԿ

Մ. Վ. ԽԱՆԲԱԲՅԱՆ, Օ. Հ. ՆԱԶԱՐՅԱՆ

Ուղեղի նորարդէնեբգիկ պրոեկցիաների գրգռումը (*Locus coeruleus*) հանգեցնում է հատուկ և օրինաշափ փոփոխությունների ուղեղի կեղևի և ուղեղիկի սպիտակուցների կազմում, որն ուսումնասիրվել է գելով, էլեկտրաֆորեզի միջոցով:

Ինչպես տղեղում, այնպես էլ ուղեղիկում № 4 սպիտակուցաբխն հատվածը զգալի փոքրանում է նորարդէնեբգիկ սինապսների գրգռման ժամանակ, իսկ մյուս՝ № 6 ֆրակցիան ավելանում է: Ենթադրվում է, որ վերոհիշյալ ֆրակցիաները նորարդէնեբգիկ սինապտիկ հաղորդման հետ կարգի են ունենալ անմիջական կապ:

Л И Т Е Р А Т У Р А

1. Ханбабян М. В., Манукян Л. А., Григорян А. А., Саркисян Л. В., Назарян О. А. Биологический журнал Армении, 28, 8, 1975.
2. Olson L., Fuxe K. Brain Res., 28, 165—172, 1971.
3. Палладин А. В., Белик Я. В., Полякова Н. М. Белки головного мозга и их обмен. Киев, 1972.
4. John E. In: Mechanism of Memory, Acad. Press, N.—Y., London, 1967.
5. Mahler H. In: Advances in Biochemical Psychopharmacology, 1, 49, 1969.

ГЦ-СПЕЦИФИЧЕСКАЯ ЭНДОНУКЛЕАЗА
ИЗ *VAC. THURINGIENSIS*А. А. ЧАРЧОГЛЯН, Э. Г. ЗАХАРЯН, К. С. КАРАГЕЗЯН, А. С. САФАРЯН,
Н. Г. АЗАРЯН, Р. А. ЗАХАРЯН

В последние годы при изучении нуклеиновых кислот нашли широкое применение различные ферменты (эндонуклеазы, экзонуклеазы и т. д.), выделенные из разных видов бактерий. Многие из них играют незаменимую роль при изучении первичной структуры и картирования ДНК различного происхождения, создании рекомбинантных молекул биохимическим путем и т. д. Поэтому выделение ферментов с разнообразными функциональными характеристиками у разных видов микроорганизмов имеет важное значение.

В данном исследовании изучали штамм 1000 *Vac. thuringiensis* в аспекте выявления в нем эндонуклеазной активности.

Материал и методика. Бактерии штамма 1000 *Vac. thuringiensis* выращивались в условиях глубинной ферментации на питательной среде следующего состава (%): K_2HPO_4 —0,2; NaCl—0,5; глюкоза—0,7; пептон—2,0; дрожжевой автолизат—0,5. Ферментация осуществлялась в 20-литровых аппаратах при 30° в течение 12 часов. Конечный титр вегетативных клеток 1—1,5 млрд/мл. Биомасса отделялась центрифугированием и хранилась при —15°.

ДНК фага λB_2 выделяли по методу Мак-Хетъе [4], фермент выделяли в основном по методу [2]. Гель-электрофорез производили по методу Шарпа [5].

После удаления нуклеиновых кислот полиэтиленгликолем и диализа гомогенат наносили на колонку с ДЕ-целлюлозой (ДЕ-32, Whatman) (1,6×35 см), предварительно уравновешенную буфером А (0,01 М трис-HCl, pH 7,4, 7 мМ 2-меркаптоэтанол, 6% глицерин). После промывки проводили хроматографию в линейном градиенте 0—1,0 М NaCl со скоростью 60 мл/час и собирали фракции по 6 мл. Активные фракции выявляли электрофоретически. Для этого в реакционную смесь (50 мкл), содержащую 10 мМ трис-HCl (pH 7,4), 7 мМ $MgCl_2$, 7 мМ 2-меркаптоэтанол и 1—3 ДНК λB_2 , вносили по 2—5 мкл каждой фракции. Смесь инкубировали при 37° в течение 30 мин. Реакцию останавливали добавлением ЭДТА до конечной концентрации 15 мМ. Далее добавляли равный объем 30% сахарозы с бромфенол синним и эту смесь наливали на 0,6% агарозный гель.

Результаты и обсуждение. Установлено, что фракции, элюируемые при 0,3 М NaCl, обладают эндонуклеазной активностью. Фермент расщепляет ДНК λB_2 на большое количество высокомолекулярных фрагментов, сливающихся друг с другом в агарозном геле (рис. 1). Полу-

ченный после хроматографии на ДЕ-целлюлозе фермент относительно свободен от интерферирующих активностей и после диализа против буфера А+50% глицерин его можно хранить в течение 4 месяцев при -20° .

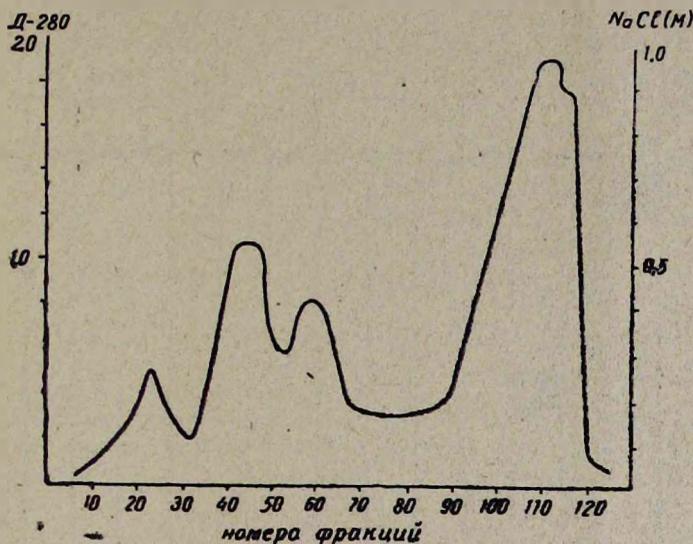


Рис. 1. Хроматография фермента на ДЕ-целлюлозе.

Эндонуклеаза активно работает в инкубационной смеси, содержащей 10 мМ трис-НСI (рН 7,4), 7—10 мМ $MgCl_2$. Ионы натрия и калия в концентрации до 10 мМ частично, а в более высоких—полностью ингибируют активность фермента. Активность его проявляется в реакционной смеси с рН 6,5—8,0, но оптимальная—при рН 7,4—7,5.

Нами было установлено, что в активных фракциях эндонуклеазы имеется ингибитор, который не удаляется при диализе. Прогревание фракций в течение 10 мин в водяной бане ($80-100^{\circ}$) не разрушало ингибитор, однако он быстро инактивировался в присутствии панкреатической рибонуклеазы, что указывает на его рибонуклеиновое происхождение. После обработки рибонуклеазой активность фермента возросла в несколько раз. По-видимому, в данном случае мы имеем дело с транспортной РНК, ибо она обладает наиболее активным ингибирующим действием. Образую комплексы с эндонуклеазой, тРНК значительно снижает специфичность действия фермента [1, 3].

Как известно, для ферментов эндонуклеазного типа важнейшим свойством является специфичность узнавания определенной последовательности ДНК. Для предварительного изучения этого вопроса целесообразно использование некоторых химических агентов, имеющих сродство к различным основаниям ДНК.

Мы использовали актиномицин Д, ибо известно, что связь его с ДНК определяется не только сродством к остаткам гуанина, но и необходимостью чередования последнего с цитозином [6].

Предварительная обработка ДНК λB_2 актиномицином Д в различных концентрациях (1—10 μ) показала, что эндонуклеаза частично расщепляет ДНК при концентрации 1—2 μ , а в более высоких—действие фермента полностью ингибируется. Исходя из этого, можно предположить, что в участок узнавания эндонуклеазы входят в основном ГЦ-пары.

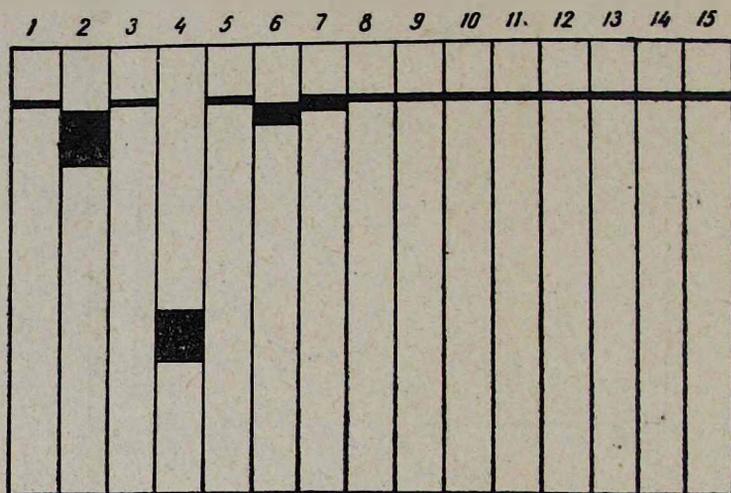


Рис. 2. Электрофоретический анализ ДНК λB_2 . 1, 3, 5—контроль ДНК; 2—ДНК+эндонуклеаза; 4—ДНК+эндонуклеаза+РНКаза; 6—15—ДНК+актиномицин Д (1—10 мкг)+эндонуклеаза.

При действии фермента на ковалентно-замкнутые формы митохондриальной ДНК печени кролика получают высокомолекулярные фрагменты, что указывает на эндонуклеазный характер действия его.

Институт экспериментальной биологии АН АрмССР

Поступило 13.VI 1977 г.

ԳՇ-ՍՊԵՑԻՖԻԿ ԷՆԴՈՆՈՒԿԼԵԱԶԱ. *Bac. THURIENGIENSIS* 837 ՇՏԱՄԻՑ

Ա. Ա. ԶԱՐԳՈՂՅԱՆ, Է. Գ. ԶԱՔԱՐՅԱՆ, Կ. Ա. ԿԱՐԱԳՅՈՋՅԱՆ.

Ա. Ս. ՍԱՆԱՐՅԱՆ, Ն. Հ. ԱԶԱՐՅԱՆ, Ռ. Ա. ԶԱՔԱՐՅԱՆ

Bac. thuriengiensis 837 շտամից անդատվել է և մասնակի ուսումնասիրվել է նորոնուկլեազային ակտիվություն, որը հիմնականում ազդում է ԴՆԹ-ի ԳՇ զուգբերի վրա:

Л И Т Е Р А Т У Р А

1. Goebel W., Helinski D. R. *Biochemistry*, 9, 4793, 1970.
2. Humphries P. et al. *Virology*, 58, 1, 25, 1974.
3. Lehman I. R., Roussos G. G., Pratt E. A. *J. Biol. Chem.*, 237, 819, 1962.
4. Mc Hetlie et al. *J. Mol. Biol.*, 23, 355, 1967.
5. Sharp P. A. et al. *Biochemistry*, 12, 16, 3055, 1973.
6. Wells R. D., Larson J. E. *J. Mol. Biol.*, 49, 319, 1970.

КРАТКИЕ СООБЩЕНИЯ

УДК 615.9.613.6

ИЗУЧЕНИЕ МУТАГЕННОГО ДЕЙСТВИЯ ЭТИЛОВОГО
И БУТИЛОВОГО КСАНТОГЕНАТОВ НА ОРГАНИЗМ
ЖИВОТНЫХ И ЧЕЛОВЕКА

Э. А. БАБАЯН, С. Б. БАГРАМЯН, А. С. ПОГОСЯН

Изучалось мутагенное действие бутилового и этилового ксантогенатов на организм животных и человека. Этиловый ксантогенат оказывает мутагенное действие в дозе 10 мг/кг и концентрации 13,65 мг/м³ на клетки костного мозга белых крыс, а в концентрации 1,74 мг/м³ не вызывает мутагенного эффекта в их соматических клетках. Бутиловый ксантогенат калия в концентрациях, близких уровню ныне существующей ПДК (10 мг/м³), увеличивает процент хромосомных нарушений у людей.

В практике флотационного обогащения руд широко применяются ксантогенаты—соединения, получаемые в результате взаимодействия спиртов, сероуглерода и щелочи.

В литературе отсутствуют данные об отдаленных эффектах, возникающих под воздействием этих соединений. Однако имеются данные, свидетельствующие о том, что продукт разложения ксантогенатов—сероуглерод, и вещества, полученные на его основе, обладают значительной активностью при воздействии на хромосомный аппарат и на функцию воспроизведения потомства как людей, так и экспериментальных животных [1—5].

Соколов, Горизонтова и Чулина [6] изучали особенности состава и структуры хромосом клеток крови и костного мозга у больных с хронической сероуглеродной интоксикацией, начальные формы которой сопровождалась более частым, чем в контроле, появлением в крови клеток с хромосомными абберациями, однако анеуплоидных клеток обнаруживалось столько же, сколько в контроле. Отмечалось существование поврежденных клеток. Выявленные изменения сохранялись продолжительное время (2,5—15 лет) после прекращения контакта с токсическим агентом.

Поскольку сероуглерод является составной частью ксантогената, то не исключено, что и целая молекула ксантогената может обладать мутагенной активностью.

Материал и методика. Опыты проводились на белых крысах и на культуре лимфоцитов периферической крови человека. Исследовались мутагенная активность этилового ксантогената в опытах на белых крысах и цитогенетические изменения у людей, подвергавшихся воздействию бутилового ксантогената.

Животные подвергались хронической пероральной (10 мг/кг) и ингаляционной затравке (концентрация в камерах—13,65 и 1,74 мг/м³, экспозиция 4 час.).

При пероральных затравках использовался анателофазный метод подсчета хромосомных перестроек в клетках костного мозга белых крыс. В каждой группе просматривалось 1800—2400 анателофаз.

В серии опытов с этиловым ксантогенатом (пероральное введение 10 мг/кг) сроки забоев были следующие: через 24 часа, 15, 45, 75 дней после начала затравки.

При изучении мутагенного действия этилового ксантогената в концентрациях 13,65 и 1,74 мг/м³ мы пользовались методом подсчета хромосомных перестроек в клетках костного мозга на стадии метафазы клеточного деления. Препараты готовились по методу Форда и Воллама [7]. Учитывались структурные изменения как хроматидного, так и хромосомного типа. В каждой группе анализировалось 250—670 метафазных пластинок.

Цитогенетический анализ крови проводился у 14 рабочих цеха ксантогенатов медеплавильного завода и у 17 рабочих реагентного цеха медно-молибденового комбината, имеющих производственный контакт с бутиловым ксантогенатом. Контролем служила кровь 5 работников обслуживающего персонала медеплавильного завода и 11 работников управления медно-молибденового комбината.

Изучение активности бутилового ксантогената калия проводилось с помощью культивирования лимфоцитов периферической крови по методу Хангерфорда [8]. Препараты фиксировались смесью метанол—ледяная уксусная кислота (3:1) и окрашивались Азур II с эозином. В анализ брались метафазные пластины с числом хромосом не менее 44 и не более 47. У каждого рабочего просматривалось 100 метафазных пластинок. Учитывались хромосомные aberrации, классифицированные Бочковым с соавт. [9]. Полученные результаты подвергались статистической обработке.

В воздухе рабочих зон в среднем обнаруживались следующие концентрации: 8—12 мг/м³ в цехе производства ксантогенатов, реагентном отделении—6—12 мг/м³.

Результаты и обсуждение. Результаты исследований показали, что под влиянием этилового ксантогената в дозе 10 мг/кг в клетках костного мозга подопытных крыс частота хромосомных нарушений статистически достоверно повышается после первого же дня затравки (табл. 1). Поражение хромосом протекало по типу хроматидных мостов и фрагментов.

Таблица 1

Результаты цитогенетического анализа клеток костного мозга белых крыс, подвергавшихся воздействию этилового ксантогената

Сроки воздействия	Доза, концентрация					
	число животных	10 мг/кг	число животных	13,65 мг/м ³	число животных	1,74 мг/м ³
24 часа	6	12,46±1,21 P<0,001	6	4,3±0,86 P<0,01	7	1,24±0,15
Контроль	7	3,88±0,62	7	1,4±0,3	7	1,4 ±0,3
15 дней	7	6,98±0,62 P<0,002	—	—	—	—
Контроль	7	3,07±0,3	—	—	—	—
45 дней	6	4,3 ±0,67	—	—	—	—
Контроль	7	3,07±0,3	—	—	—	—
75 дней	6	8,88±0,62 P<0,002	7	3,2±0,49 P<0,05	7	2,22±0,3
Контроль	7	3,07±0,3	7	1,4±0,3	7	1,4 ±0,3
120 дней	—	—	—	—	7	2,7 ±0,84
Контроль	—	—	—	—	7	1,4 ±0,3

В клетках костного мозга крыс, подвергнутых воздействию этилового ксантогената в концентрации 13,65 мг/м³, количество хромосомных перестроек повысилось, причем в наибольшей степени через 24 часа (табл. 1). В основном поражение хромосом протекало по типу хроматидных разрывов (одиночные фрагменты), намного реже—по типу хромосомного разрыва (парный фрагмент). У крыс, подвергнутых заправке в течение 75 дней в той же концентрации, процент клеток с хромосомными aberrациями был несколько ниже, но статистически достоверно отличался от контроля.

Этиловый ксантогенат в концентрации 1,74 мг/м³ не вызывал мутагенного эффекта в соматических клетках белых крыс (табл. 1).

Полученные результаты свидетельствуют о том, что в концентрации 13,65 мг/м³ этиловый ксантогенат мутагенно активен, а в концентрации 1,74 мг/м³ не вызывает мутагенного эффекта.

Цитогенетический анализ периферической крови рабочих цеха производства ксантогенатов выявил 3,71% хромосомных нарушений при контроле 0,83% ($P < 0,02$), у рабочих реагентного отделения обогатительной фабрики выявлены 3,41% хромосомных нарушений при контроле 1,18% ($P < 0,05$) (табл. 2). В основном были обнаружены хрома-

Таблица 2

Результаты цитогенетического обследования лиц, имеющих профессиональный контакт с бутиловым ксантогенатом

Группы	Показатели					
	концентрация вещества в воздухе, мг/м ³	число лиц	число анализированных клеток	количество aberrаций, %	типы aberrаций, %	
					хроматидный	хромосомный
Рабочие цеха производства ксантогената	6—12	14	1400	3,71±0,13 $P < 0,02$	72,5	27,5
Контроль		5	500	0,83±0,18	46,5	54,5
Рабочие реагентного отделения обогатительной фабрики	8—18	17	1700	3,41±0,20 $P < 0,05$	67,3	32,7
Контроль		11	1100	1,18±0,39	46,1	53,6
Спонтанный уровень		181	28396	1,19 ± 0,06	50,3	49,6

(Бочков и соавт. 1972).

тидные разрывы—одиночные фрагменты (72,5% у рабочих цеха ксантогенатов и 67,3% у реагентщиков обогатительной фабрики). Хромосомные разрывы (парные фрагменты) наблюдались соответственно—27,5 и 32,7%. Других типов структурных aberrаций, а также изменения числа хромосом в кариотипе нами не было выявлено.

Таким образом, результаты наших исследований дают основание считать, что бутиловый ксантогенат калия в концентрациях, близких уровню ныне существующей ПДК (10 мг/м^3), увеличивает процент хромосомных нарушений у людей.

НИИ общей гигиены и профессиональных заболеваний
МЗ АрмССР

Поступило 9.11 1977 г

ԿԵՆԴԱՆԻՆԵՐԻ ԵՎ ՄԱՐԴՈՒ ՕՐԳԱՆԻԶՄԻ ՎՐԱ ԷԹԻԼ ԵՎ ԲՈՒԹԻԼ
ՔՍԱՆՏՈԳԵՆԱՏՆԵՐԻ ՄՈՒՏԱԳԵՆ ԱԶԻԵՑՈՒԹՅԱՆ
ՈՒՍՈՒՄՆԱՍԻՐՈՒԹՅԱՆ ԱՐԴՅՈՒՆՔՆԵՐԸ

Է. Ա. ԲԱԲԱՅԱՆ, Ս. Բ. ԲԱՂՐԱՄՅԱՆ, Ա. Ս. ԳՈՂՈՍՅԱՆ

Ուսումնասիրվել է էթիլ և բութիլ քսանտոգենատների մուտագենն ակտիվությունը մարդու և կենդանիների օրգանիզմի վրա: Պարզվել է, որ էթիլ քսանտոգենատի 10 մգ/կգ դոզայով սպիտակ առնետների վրա ազդելու դեպքում, նրանց ոսկրածուծի բջիջներում առաջանում է քրոմոսոմային վերակառուցումներ: Էթիլ քսանտոգենատի $13,65 \text{ մգ/մ}^3$ խտության ազդեցության ուսումնասիրության ժամանակ նույնպես նկատվում է քրոմոսոմային վերակառուցումների քանակի բարձրացում, իսկ $1,74 \text{ մգ/մ}^3$ խտությունը չի առաջացնում մուտագեն էֆեկտ սպիտակ առնետների մարմնական բջիջներում:

Պղնձածուլական կոմբինատի քսանտոգենատների արտադրության ցեխում աշխատող բանվորների (որոնք կոնտակտի մեջ են գտնվում բութիլ քսանտոգենատի հետ) պերիֆերիկ արյան բջջադեմոնստրիկական անալիզը բացահայտեց քրոմոսոմային վերակառուցումների $3,71\%$ ստուգիչի $0,83\%$ -ի դեպքում, իսկ պղնձամուլիբդենային հարստացուցիչ ֆարբիկայի ռեագենտային ցեխի բանվորների մոտ (որոնք աշխատում են այդ քսանտոգենատի հետ), հայտնաբերվեց $3,10\%$ քրոմոսոմային վերակառուցումներ՝ ստուգիչի $1,75\%$ -ի դեպքում:

Л И Т Е Р А Т У Р А

1. Васильева И. А. Гигиена и санитария, 7, 1973.
2. Gavallert A., Maugeri U., Visconti E. Arch. Mal. prof., 31, 1—2, 1970.
3. Cymerski Z., Szyska K., Abucwier A., Zajackowski T. Pol. prs. chir., 45, 2a, 1973.
4. Koziol A., Kulcycka H., Rozewicki S. Med. Pracy, 22, 5, 1971.
5. Langranian L., Popescu H., Klepsch L. Med. d. Lavoro, 50, 10, 1969.
6. Соколова В. В., Горизонтова М. Н., Чулина Н. А. В сб.: Вопросы гигиенического нормирования при изучении отдаленных последствий воздействия промышленных веществ, 40—43, М., 1972.
7. Ford E. H. G., Wollam D. H. M. Exp. Cell. Res., 52, 2, 320—326, 1963.
8. Hungerford D. A. Stain. Technology, 40, 6, 333—338, 1965.
9. Бочков Н. П., Демин Ю. С., Лучник Н. В. Генетика, 8, 5, 1972.

КРАТКИЕ СООБЩЕНИЯ

УДК 576.3+575.1+547.857.4+581.4

ЦИТОГЕНЕТИЧЕСКОЕ ИССЛЕДОВАНИЕ МОДИФИКАЦИИ
КОФЕИНОМ РАДИАЦИОННОГО ПОРАЖЕНИЯ
У *CREPIS CAPILLARIS*

С. Е. ЕГИАЗАРЯН

К кофеину в последнее время привлекается большое внимание, особенно с тех пор, как было установлено, что он является ингибитором темновой репарации в бактериальных системах [1].

Модифицирующее действие кофеина показано в отношении эукариотов, подвергнутых действию радиации, как на цитогенетическом, так и молекулярном уровнях. На растительных клетках и на клетках млекопитающих показано, что кофеин увеличивает выход структурных перестроек в стадиях G_2 и S и в большинстве случаев не меняет этот показатель в стадии G_1 .

Исследовалось также действие кофеина на выживаемость клеток, причем одни авторы наблюдали модифицирующий эффект кофеина [2, 3], другие не обнаружили его [4, 5].

Установлено, что кофеин подавляет репарацию разрывов ДНК [6], хотя имеются данные, опровергающие этот вывод [7]. Обнаружено также, что кофеин ликвидирует радиационную задержку деления клеток [8, 9].

Использование химической модификации радиационных повреждений позволило выявить значительную роль репарационных процессов в радиочувствительности различных стадий клеточного цикла [10, 11].

В настоящей работе с помощью кофеина исследовалась роль репарации в конечном повреждении хромосом клеток *Crepis capillaris*, облученных малыми дозами рентгеновских лучей (200, 400 p) на разных стадиях клеточного цикла.

Материал и методика. Корешки *Crepis capillaris* после 32-часового проращивания облучались рентгеновскими лучами (200 и 400 p) на аппарате РУМ-11, при мощности дозы 185 p/мин, с использованием Cu-0,5 фильтра. Сразу после облучения проростки помещались в раствор кофеина на 2 часа. Использовали раствор кофеин-бензоат натрия, который применяли в концентрации $2 \cdot 10^{-3}$ M (в расчете на кофеин). После 10-минутной промывки проростки погружались в колхицин (0,01%) и на протяжении всего опыта росли в нем. Корешки длиной 1,5—1,8 мм фиксировались в смеси Карнуа (3 части спирта и 1 часть 45%-ой уксусной кислоты) через каждые 2 часа (6 фиксаций). Аберрации хромосом анализировались на давленных ацетокарми-

новых препаратах. Параллельно ставилась контрольная партия опытов, в которых проростки либо только облучались в обеих дозах, либо выдерживались в кофенне, не подвергаясь облучению.

Результаты и обсуждение. По нашим данным, модификация кофеином мутагенного эффекта облучения (как 200, так и 400 р) выражалась в изменении спектра aberrаций и общем увеличении числа клеток с aberrациями (табл.), которое с возрастанием срока фиксации уменьшалось: при 2-часовой фиксации—51,4, при 12-часовой—33,7% (200 р), и соответственно 76,2 и 62,2 (400 р).

В отсутствие модификации наблюдается уменьшение выхода перестроек от G_2 к G_1 -стадии. Наибольший процент измененных клеток при облучении 200 р отмечается при 2-часовой фиксации, по мере увеличения срока фиксации происходит снижение этого показателя, а с 6-го часа—выравнивание его (табл.). В спектре нарушений при этом преобладают хроматидные aberrации, изолюкусные разрывы всех типов и транслокации. Одиночные хроматидные разрывы отмечаются в первые часы фиксации, процент их достоверно уменьшается в последние часы (табл.). Самый высокий уровень общего повреждения наблюдается при 2- и 4-часовой фиксации.

При облучении в дозе 400 р наблюдается такая же зависимость радиочувствительности от стадий цикла. Модифицирующий эффект кофеина при этом выражается в усилении повреждения.

Использование кофеина ($2 \cdot 10^{-3}$ М) приводит к увеличению процента перестроек, происходящему преимущественно за счет изолюкусных разрывов, хроматидных делеций, транслокаций. Гораздо реже встречаются перестройки типа интерстициальных делеций, колец, микрофрагментов. Кофеин в сочетании с облучением (200 р) приводит к возрастанию процента перестроек во всех сроках фиксации. Так, при 2-часовой фиксации процент изолюкусных разрывов с соединениями и транслокаций составил 22,7, к 12-му часу—19,6; изолюкусных разрывов без соединений (NUpd) соответственно—3,64, 1,49; хроматидных и интерстициальных делеций—23,5 и 8,75.

Кофеин, используемый после облучения 400 р, приводит к еще более высокому проценту aberrаций, особенно с 4-го часа фиксации. Так, процент изолюкусных разрывов и транслокаций к этому времени составил 39,8, к 12-му часу—37,8; изолюкусных разрывов без соединения фрагментов (NUpd)—4,07 и 2,62 соответственно.

Кофеин в данной концентрации ($2 \cdot 10^{-3}$ М) практически не мутабилен, однако вызывает задержку деления. Рассматривая спектр мутаций, с 8-го часа фиксации (S-стадия) мы наблюдали появление, с некоторым опозданием по сравнению с контролем (табл.), определенного количества хромосомных перестроек (дигентрики, кольца, симметричные обмены), что свидетельствует о задержке митоза и о том, что кофеин влияет на продолжительность цикла, растягивая его.

Литературные данные о структурных повреждениях хромосом довольно многочисленны. Обработка кофеином как облученных, так и

Перестройки хромосом при модификации кофеином радиационного поражения

Таблица

Варианты опыта	Сроки фиксации	Количество просмотровых метафаз	Количество клеток с абберациями	Количество аббераций	Количество аббераций на 100 клеток	Количество перестроек на 100 клеток			
						изолюкусные разрывы и транслокации	NUpd	хроматидные и интерстициальные делеции	хромосомные абберации
Облучение 200 p	2	432	154	175	40,5±2,3	15,50±1,7	2,31±0,7	21,53±1,9	1,36±0,5 2,85±0,7 2,71±0,8
	4	510	152	165	32,4±2,0	10,98±1,4	1,38±0,5	19,02±1,7	
	6	531	125	147	27,8±1,9	13,44±1,5	1,88±0,6	12,14±1,4	
	8	585	126	141	24,1±1,7	12,95±1,4	1,71±0,5	7,53±1,09	
	10	528	93	127	25,1±1,8	12,31±1,4	2,84±0,7	5,5±0,9	
	12	442	52	78	17,6±1,8	9,28±1,3	1,13±0,5	4,07±0,9	
Облучение 200 p + кофеин	2	412	170	212	51,4±2,5	22,72±2,06	3,64±0,9	23,5±2,08	1,65±0,6 2,32±0,7 3,09±0,8
	4	465	213	238	51,2±2,3	24,32±1,9	1,72±0,6	28,04±1,9	
	6	528	186	216	40,9±2,1	23,71±1,8	2,08±0,02	17,63±1,7	
	8	485	179	230	47,5±2,3	23,31±1,9	0,62±0,4	18,6±1,8	
	10	517	173	224	43,4±2,4	24,37±1,9	0,97±0,4	13,34±1,5	
	12	469	131	158	33,7±2,2	19,62±1,9	1,49±0,4	8,75±1,4	
Облучение 400 p	2	327	194	269	80,5±2,1	12,93±1,8	15,3±1,9	51,7±2,8	2,7±0,6 5,2±0,9 4,35±0,7
	4	442	309	388	85,9±1,6	35,51±2,3	4,07±0,9	43,16±2,4	
	6	604	273	318	52,7±20,3	15,66±1,5	2,16±0,6	22,9±1,7	
	8	699	273	291	41,6±1,8	22,28±1,6	2,02±0,5	13,27±1,3	
	10	612	205	213	34,8±1,9	16,39±1,5	3,3±0,7	8,53±1,13	
	12	828	191	215	25,9±1,5	12,57±1,1	1,81±0,5	5,07±2,4	
Облучение 400 p + кофеин	2	615	440	469	76,2±1,7	31,65±1,8	3,91±0,8	39,6±1,9	0,17±0,2 1,4±0,5 3,3±0,9
	4	442	357	402	91,0±1,9	39,8±2,3	4,07±0,9	45,08±2,4	
	6	451	385	390	86,6±1,6	44,6±2,3	4,4±0,9	33,96±2,2	
	8	581	422	527	90,8±1,2	50,96±2,08	0,34±0,2	32,9±1,9	
	10	572	390	470	82,1±1,6	50,04±2,1	0,7±0,4	25,95±1,8	
	12	420	225	261	62,2±2,4	37,8±2,3	2,62±0,8	16,2±1,8	

необлученных клеток приводит к более позднему появлению митотических клеток, что свидетельствует об удлинении стадии G_2 ; при этом он ликвидирует радиационную задержку деления [8, 9].

Приведенные данные показывают, что эффект модификации максимален в стадии синтеза ДНК, поскольку, согласно результатам, полученным методом радиоавтографии [1, 2], S-стадия соответствует срокам фиксации 4—8 часов. С увеличением этого срока происходит снижение эффекта модификации, что указывает на неэффективность кофеина в стадии G_1 . Об этом же свидетельствует низкий выход хромосомных повреждений при воздействии кофеином.

Приведенные результаты согласуются с литературными данными и демонстрируют выравнивание радиочувствительности в пределах стадии G_2 —S на фоне модификации кофеином радиационного повреждения. Это подчеркивает, что различия в радиационном повреждении, наблюдаемые в отсутствие модификации, в значительной мере обусловлены не различием в величине первичных повреждений хромосом, а разным вкладом репарации в конечный результат действия радиации на ядерный аппарат клетки.

Автор выражает благодарность Ганасси Е. Э. и Авакяну В. А. за помощь в подготовке данной работы.

Институт экспериментальной биологии АН АрмССР

Поступило 22.XII 1977 г.

ԿՈՖԵԻՆՈՎ ՄՈԴԻՖԻԿԱՑՎԱԾ ՃԱՌԱԳԱՅԹԱՅԻՆ ՎԼԱՍՎԱԾՔԻ
ԲԶՋԱԳԵՆԵՏԻԿԱԿԱՆ ՈՒՍՈՒՄՆԱՍԻՐՈՒԹՅՈՒՆԸ
CREPIS CAPILLARIS-Ի ՄՈՏ

Ս. Ե. ԵՂԻԱԶԱՐՅԱՆ

Ուսումնասիրվել է 200 և 400 ռ դոզայով ճառագայթահարումից հետո կոֆեինով մշակված *C. capillaris*-ի արմատածայրերի մոտ քրոմոսոմային խաթարումների հաճախականությունը:

Պարզվել է, որ ճառագայթային վնասվածքի ուժեղացումը, ինչպես 200, այնպես էլ 400 ռ դոզաներով ճառագայթահարման դեպքում, հատկապես ուժեղ է արտահայտվում 2 և 4 ժամյա ֆիքսացիաների ժամանակ:

Л И Т Е Р А Т У Р А

1. Жестяников В. Д. Восстановление и радиорезистентность клетки. Л., 1970.
2. Малиновский О. В., Михайлова А. Г., Сигалева Н. Я., Шейкина Р. А. Цитология, 10, 1304, 1973.
3. Семенова Е. Г., Жестяников В. Д. Радиационная цитология—74, ЛИЯФ, 1975.
4. Arlett C. F. Inter. J. Rad. Biol., 17, 515, 1970.
5. Елиссенко Н. Н., Максимова М. В. Цитология и генетика, 9, 3, 237, 1975.
6. Жестяников В. Д. Радиобиология, Ииф. бюлл., 16, 3, 1974.
7. Шредер Э., Магдон Э. Тез. докл. I радиобиол. конф., соч. стран, ЧССР, 395, 1974.
8. Scafe J. F. Inter. J. Rad. Biol., 19, 191, 195, 1975.
9. Kltmra H. J. Rad. res., 15, 2, 75, 1974.
10. Заичкина С. И., Аптикаева Г. Ф., Ганасси Е. Э. Радиобиология, 13, 5, 754, 1973.
11. Саугабаева К. М., Эйдус Л. Х., Ганасси Е. Э. Радиобиология—76, ЛИЯФ, 1977.
12. Митрофанов Ю. А., Восканян А. З. Цитология и генетика, 5, 422—425, 1972.

VI МЕЖДУНАРОДНЫЙ СИМПОЗИУМ ПО КУЛЬТУРЕ АБРИКОСА

4—8-го июля 1977 года в Ереване на базе Армянского ордена «Знак Почета» научно-исследовательского института виноградарства, виноделия и плодоводства состоялся VI Международный симпозиум по культуре абрикоса, в работе которого принимали участие видные ученые и специалисты Австралии, Болгарии, Венгрии, Испании, Польши, Румынии, СССР, США, ФРГ, Франции, Чехословакии, Югославии, Италии.

На пленарных заседаниях VI Международного симпозиума были заслушаны доклады по агротехнике, физиологии, экологии, фитопатологии, болезням и вредителям, а также переработке плодов абрикоса: подведены итоги проделанных работ.

В докладах и дискуссиях было подчеркнуто, что повышение продуктивности абрикоса в большинстве стран и районов его промышленной культуры, наряду с рациональным размещением и технологией возделывания, тесно связано с улучшением сортов, главным образом с повышением их зимостойкости и устойчивости к болезням, выведением самоплодных сортов различного срока созревания, созданием низкорослых с малообъемными кронами сортов, выбором оптимальных форм кронирования, механизацией работ по уходу и уборке урожая и др.

Участники Симпозиума отметили большой объем работ по селекции абрикоса, выявлению лучших, в качестве исходных, форм для селекции, сбору, описанию и изучению многочисленной коллекции местных и интродуцированных сортов; созданию новых сортов абрикоса, относительно позднестеблевых, морозоустойчивых, самоплодных столового, сухофруктового и универсального назначения, разработке ботанико-географической классификации абрикоса с учетом агробиологических особенностей сортов.

Из представленных по этим вопросам докладов заслуживают внимания следующие: «Селекция абрикоса в условиях юга СССР», Костиной К. Ф.; «Селекция абрикоса в Армянской ССР», Агулян С. Л., Санагян М. Б. (СССР); «Селекция абрикоса в штате Нью-Йорк», Лемба Р. (США); «Наследование некоторых признаков у абрикоса», А. С. Паунович, Р. Плажинича (Югославия); «Особенности формирования цветков у абрикоса», Д. Сураньи (ВНР), а также ученых Румынии и Италии.

Научно-исследовательскими учреждениями разрабатывается технология возделывания, обеспечивающая получение высоких урожаев, качественных плодов, при низкой себестоимости. При этом обращается внимание на предпосадочную подготовку почвы, площади питания, на содержание и обработку почвы в саду, формирование и обрезку деревьев, механизацию трудоемких работ, особенно обрезки и сбора урожая (СССР, США, Болгария, Югославия, Чехословакия).

Во всех странах абрикосовые насаждения сильно страдают от усыхания. Поэтому в работе Симпозиума этой проблеме было отведено значительное место. Из установочных докладов один—президента секции Международного общества по овощеводству и садоводству С. А. Пауновича—был посвящен апopleксии абрикоса. Этот вопрос рассматривался также в ряде других работ: «Факторы, способствующие развитию усыхания абрикосовых деревьев в Армении» (Бабалян А. А.), «Вирусные заболевания абрикоса в Молдавии» (Вердеревская Т. Д.), «Причины усыхания абрикоса в Молдавии» (Попушой И. С., СССР), «Бактериальный рак—серьезное заболевание, вызывающее усыхание абрикоса и других косточковых в Калифорнии» (Х. Инглиш,

Дж. Дэвио, Дж. Де-Вей, Б. Лаунсберн). «Роль Prunus stem pitting в усыхании абрикосовых деревьев», (С. М. Мирсетич). «Борьба с некрозом и суховеершностью в абрикосовых садах Калифорнии» (У. Дж. Моллер, США); «Современные данные по заболеваемости апоплексией абрикоса в Европе» (Э. Клемент), «Вертициллезное усыхание абрикоса» (Ковач Г. Д., ВНР); «Образование камеди у косточковых» (Р. Штоссер, ФРГ) и др. В этих докладах показано, что причинами усыхания является вредное воздействие грибных заболеваний, фитопатогенных бактерий, вирусов, а также неблагоприятных почвенных и климатических условий. Проявление усыхания и степень его вреда зависят от сорта, подвоев, агротехники и других причин.

Проделана значительная работа в области физиологии и биохимии абрикоса, связанная с проблемами повышения продуктивности и качества урожая. Изучено влияние почвенно-климатических условий на рост, развитие, плодоношение и долговечность деревьев. Заслуживают внимания исследования по морозо-, засухо- и солеустойчивости, а также выявлению основных нарушений метаболизма при повреждении функциональными заболеваниями и отмирании деревьев.

Отметив исключительно важное значение плодов абрикоса в питании и с целью расширения ареала культуры, поднятия урожайности, качества плодов, повышения экономической эффективности насаждений, участники Симпозиума рекомендовали ряд мер.

Участники Симпозиума ознакомились с опытом возделывания культуры абрикоса на мелиорированных садовых солонцах-солончаках Арагатской равнины Армении, на Ерасхаунской опытной мелиоративной станции научно-исследовательского института почвоведения и агрохимии; с промышленными садами и технологией возделывания абрикоса в совхозах республики и деятельностью научных учреждений Армении.

Принято решение о проведении следующего симпозиума в 1980 году в Румынии.

А. С. МЕЛКОНЯН,
Л. П. АПЕТЬЯНЦ

ВТОРОЙ ВСЕСОЮЗНЫЙ СИМПОЗИУМ ПО СОМАТИЧЕСКОЙ ПОЛИПЛОИДИИ

С 9-го по 12-е ноября 1977 г. в Ереване проходил II Всесоюзный симпозиум по соматической полиплоидии*. В работе симпозиума приняли участие 110 специалистов, выступивших с докладами, из Москвы, Ленинграда, Еревана, Тбилиси, Новосибирска и других городов.

В докладе В. Я. Бродского (Москва) была определена биологическая значимость соматической полиплоидии, даны новые доказательства особого пути развития полиплоидных популяций клеток и их важной роли в процессах развития организмов.

На конкретном материале были рассмотрены вопросы, касающиеся механизмов полиплоидизации клеток, обсуждены гипотезы о причинах формирования полиплоидных клеток, в частности гипотеза, согласно которой уровень пролиферативной активности и полиплоидизации клеток в популяции регулируется факторами общего развития популяции (Строева О. Г. и Панова И. Г., Фактор В. М. и Урываева И. В., Москва; Малютин В. Ф. с соавт., Владивосток, Москва). В ряде сообщений были представлены материалы, отражающие интересное явление погеномной фрагментации высокоплоидных ядер трофобласта и возрастание функциональных возможностей клеток—накопление гликогена в гепатоцитах—по мере увеличения плоидности (Зыбина Е. В. с соавт., Кудрявцева М. В. с соавт., Ленинград). На модельной системе «нейрон-глия» в культуре было показано, что количество ДНК увеличивается с момента стабилизации межклеточных связей в системе (Мусеридзе Д. П. и Сванидзе И. К., Тбилиси).

Были рассмотрены также вопросы о возможности управления процессом полиплоидизации (Павлова М. К. и Малюк В. И., Киев), связи полиплоидизации клеток с их дифференцировкой у различных растений и животных (Усенко Л. И., Ленинград; Банникова В. П. и Шпилевая С. П., Киев; Воробьев В. А., Владивосток), с процессами метаморфоза у амфибий (Гербицкий Л. В. с соавт., Днепропетровск), адаптации к меняющимся условиям среды обитания инфузорий (Суханова К. М. с соавт., Винникова А. В. и Голикова М. Н., Ленинград), а также гиперрепликации ДНК отдельных участков генома субъядерных макроядер инфузорий (Френкель М. А., Ленинград).

Магакяном Ю. А., Караловой Е. М. и Хачатрян М. Г. с соавт. (Ереван) была выдвинута концепция, согласно которой гиперрепликация ДНК является необходимым условием осуществления процессов дифференцировки и морфо-функциональной специализации клеток и их популяций. Основным фактором, побуждающим клетки перейти к полной или частичной эндоредупликации, является регуляция процессов дифференцировки и пролиферации на популяционном уровне, а каждая клетка потенциально обладает способностью реагировать на изменение ситуации наращиванием матричного материала. Зайчиковой Э. П., Виноградовым А. К. с соавт. (Ленинград), Бахтадзе Г. И. (Тбилиси), Истоминой А. Г. и Высоцкой Л. В. (Новосибирск) были рассмотрены вопросы полиплоидизации клеток гонад различных насекомых, поведения полиплоидных клеток в оо- и сперматогенезе, специфического состояния хромосом по-

* I симпозиум также состоялся в Ереване в 1971 г. (Биологический журнал Армении, 25, 1, 1972).

диплоидных клеток и способы эндоредупликации генома. Была обсуждена гипотеза, согласно которой полиплоидизацию, по крайней мере некоторых типов клеток, можно рассматривать как проявление дифференцировки, конечным этапом которой являются клетки со специфическим строением хромосом.

Туманишвили Г. Д. (Тбилиси) сообщил, что ДНК гетерохроматина может изменяться в количестве: образование избытка ДНК является результатом гиперрепликации вследствие активации механизма, обуславливающего синтез ДНК; в покоящихся клетках количество ДНК может быть гиподиплоидным. Гаспарян Г. Г., Закарян Г. Г. и Аброян Л. О. с соавт. (Ереван) представили материал, свидетельствующий о взаимозависимости между пролиферацией и дифференцировкой клеток. На модельных системах в культуре было показано, что при стимуляции пролиферации часть клеток выходит из цикла в премитотической фазе, что свидетельствует о наличии двух этапов в этом процессе—стимуляцией синтеза ДНК и активацией самого деления. Даштревская Т. В. с соавт. и Оглоблина Т. А. (Ленинград, Москва) показали, что полиплоидные клетки в культуре не способны образовывать колонии, диплоидные же клетки размножаются и способны к самоподдержанию штаммов.

Газарян К. Г. и Корвин-Павловская Е. Г. с соавт. (Москва, Ереван) предложили концепцию, согласно которой процессы дифференцировки сосредоточены в основном в пострепликативном периоде цикла, т. е. осуществляются на базе повышенного содержания ДНК в клетках. Мосоловым А. Н. с соавт. (Новосибирск) было показано, что организация хроматина в высокоплоидных ядрах имеет выраженную тенденцию к торoidalной компактизации. Рябинина Э. А. (Москва) установила, что степень участия полиплоидных клеток в процессах роста и дифференцировки зависит от прохождения организмом «критических» периодов в развитии. Согласно данным Онищенко Г. Е. и Ченцова Ю. С. (Москва), существует зависимость между образованием центриолей и полиплоидизацией клеток в тех случаях, когда этот процесс идет посредством эндомитоза. Квинихидзе Г. С. (Тбилиси) привела данные о цитохимических особенностях и становлении ультраструктуры клеток сетчатки глаза при дифференцировке в связи с динамикой содержания ДНК в ядрах.

Методическим вопросам количественной цитохимии было посвящено отдельное заседание. Были представлены оригинальные схемы новой аппаратуры и рассмотрены методы ее использования, методы оценки приборных ошибок и т. д. (Агроскин Л. С., Папаян Г. В. и Плягов Г. С., Барский И. Я. и Якубепас А. В., Ленинград). Архипов М. В. с соавт., Лебедева Г. С. и Димент А. В. (Ленинград) и Козлова Н. В. (Тбилиси) обсудили методические приемы количественного и качественного анализа состояния хроматина.

Ярыгин В. Н. и Филичина И. М. (Москва) представили результаты изучения морфологических и цитохимических особенностей одно- и двуядерных нейроцитов симпатических ганглиев. Кроме того, были рассмотрены вопросы, касающиеся зависимостей между содержанием ДНК в ядрах клеток различных органов и тканей и развитием тех или иных патологических процессов (Московский Г. И., Немировский Л. Е. с соавт., Ноздрин В. И. с соавт., Беляева Н. Н. с соавт., Москва; Веселовская Э. Ф. и Панков Е. Я., Козлова В. Ф. с соавт., Харьков; Самсонядзе Г. Г. и Барабадзе К. Н., Тбилиси; Гаспарян Э. И. и Джанджапанян С. П., Ереван).

В заключение состоялась общая дискуссия и были подведены итоги работы симпозиума. Участники дискуссии отметили высокий уровень представленных работ, их актуальность и большую долю участия молодых исследователей. Наиболее широко обсуждались вопросы о взаимозависимости между процессами дифференцировки клеток и гиперрепликацией ДНК в их ядрах и зависимости этих процессов от прохождение клетками различных фаз митотического цикла. Эти вопросы, а также изучение механизмов формирования полиплоидных клеток и роли последних в развитии клеточных популяций можно считать наиболее перспективными для дальнейших исследований.

Принято решение симпозиумы по соматической полиплоидии традиционно проводить в Ереване.

Материалы симпозиума опубликованы.

Ю. А. МАГАКЯН.

КРИТИКА И БИБЛИОГРАФИЯ

Спасокукоцкий Ю. А., Ильевич Н. В., Барченко Л. И., Нищименко О. В., Зеленская Т. М., Гоноровский А. Г. Действие специфических цитотоксических сывороток на половые железы. 216 с., Киев, 1977.

Рассматриваемая книга, являющаяся результатом многолетних систематических исследований авторов, представляет значительный вклад в развитие отечественных исследований по действию специфических цитотоксических сывороток, в частности на половые железы. Представленные данные имеют большое практическое и теоретическое значение, особенно если учесть, что одной из важных медико-биологических задач является разработка и апробация средств, способствующих восстановлению нарушенных функций организма. Особое место среди этих средств занимают иммунные цитотоксические сыворотки, направленно влияющие на жизнедеятельность органов и тканей и нормализующие их функции.

Книга состоит из предисловия, написанного акад. АН УССР Р. Е. Кавецким, введения, 5-ти глав со списком литературы в конце каждой, заключения, резюме на английском языке, 54 иллюстраций, включающих в основном микрофотографии и отчасти диаграммы, 32 таблиц.

В монографии последовательно излагается развитие учения о цитотоксинах, современное представление о механизме действия цитотоксических сывороток. Затем приводится экспериментально-теоретическое обоснование получения антитестикулярной и антиовариальной цитотоксических сывороток и основные закономерности их действия на организм животных и человека. Далее описывается методика получения этих сывороток и определения их специфичности.

Довольно большая работа проведена авторами по выяснению влияния цитотоксических сывороток на культуру тканей семенников и яичников, на структуру и функцию этих желез в эксперименте на животных, с использованием гисто- и цитохимических методов и метода электронной микроскопии. Выявлена функционально-структурная картина половых желез в норме и после воздействия различными дозами этих сывороток. Заслуживает внимания и то, что авторы путем иммунизации отдельными компонентами клеток и выделения особо активной фракции иммуноглобулинов повышают специфичность сыворотки. В патофизиологическом эксперименте показано, что у самцов с помощью малых доз антитестикулярной цитотоксической сыворотки (АТЦС) восстанавливается нарушенная с возрастом половая активность и функция оплодотворения, а у стареющих самок с помощью малых доз антиовариальной цитотоксической сыворотки (АОЦС) нормализуется эстральный цикл.

После успешных экспериментальных исследований были разработаны и получены аналогичные цитотоксические сыворотки, специфичные к ткани яичек мужчины (протестикулин) и яичников женщины (прооварин). Большой заслугой авторов является то, что эти сыворотки они применили в клинике, показав, что последние вызывают нормализацию гормонального изменения. В книге представлены также результаты клинических исследований эффективности протестикулина у больных кортикоспинальной и эндокринной формами импотенции и прооварина у женщин детородного возраста с нарушениями менструального цикла гипоовариального генеза. Полученные результаты свидетельствуют о том, что эти препараты являются биологически активными.

ми, способными оказывать реактивирующее влияние на функциональное состояние половых желез.

Отрадно отметить, что концепции А. А. Богомольца успешно развиваются в клинике при использовании цитотоксинотерапии.

Вызывает сожаление невысокое качество воспроизведения микрофотографий.

Книга представляет несомненный интерес для физиологов, патофизиологов, иммунологов, эндокринологов, сексопатологов, гинекологов.

Л. А. МАТННЯН.

ՀԱՅԿԱԿԱՆ ՍՍՀ ԳԻՏՈՒԹՅՈՒՆՆԵՐԻ ԱԿԱԴԵՄԻԱ
ՀԱՅԱՍՏԱՆԻ ԿԵՆՍԱՐԱՆԱԿԱՆ ՀԱՆՐԱՅ

Հիմնադրվել է 1946 թ.

Հրատարակվում է տարեկան 12 անգամ

Հատոր XXXI, № 4

ԵՐԵՎԱՆ

Ապրիլ, 1978

AMC 407

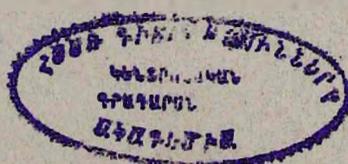
Բ Ո Վ Ա Ն Դ Ա Կ Ո Ւ Թ Յ ՈՒ Ն

Փորձառական

Հարությունյան Ա. Հ., Գալֆայան Վ. Թ., Հակոբյան Թ. Ն., Դեմիրճյան Զ. Կ., Կարապետյան Ռ. Հ., Գալոյան Ա. Ա. Հիպոթալամուսի որոշ պեպտիդների անջատումը և բնութագրումը	347
Խաչատրյան Դ. Ս., Հակոբյան Ա. Ա. Ցիտոպլազմատիկ և միթոքոնդրիալ Ա-գլիցերոֆոսֆատը հիդրազևնազանների ակտիվությունը ուղեղում բնական ֆիզիոլոգիական ներգործությունների ժամանակ	352
Մխչյան Է. Ե., Սոցկի Օ. Պ., Ակոպով Ս. Է. Ուղեղի միկրոսոմների $\text{Na}^+ - \text{K}^+ - \text{ATPase}$ -ազայի ակտիվության վրա գանգլիոդիդների ազդեցության մեխանիզմի հարցի շուրջը	360
Սոֆիադյա Ն. Ց. Կեղև-ուղեղիկային կապերի էլեկտրաֆիզիոլոգիական հետազոտությունը կապիկների մոտ	365
Գևորգյան Է. Ս., Զբբաշյան Ա. Ռ., Փանոսյան Գ. Հ. Քրոմատինի ոչ հիստոնային սպիտակուցների ֆրակցիաների կազմը առնետների մոտ՝ հիդրոկորտիզոնային ինդուկցիայի ղեկավարում	370
Մելիքոնյան Դ. Ս., Մկրտչյան Հ. Ա., Խոնդկարյան Ն. Ս. Սինապտիկ վերջույթների կողմից միջնորդի անջատման որոշ օրինաչափությունների մաթեմատիկական նկարագրությունը	375
Մալայուշիչ Վ. Բ., Տարատուխին Վ. Ռ., Շամբատով Վ. Գ. Օրգանիզմի որոշ ֆերմենտային համակարգերի ճառագայթային զգացողությունը և ջերմային ստրեսը	383
Բեջանովա Լ. Պ., Պետրոսյան Ռ. Ա., Ստեփանյան Է. Դ. Հիպոֆիզի, մակերիկամների հեռացման նշանակությունը ՌԷՍ պաշտպանական ֆունկցիաների և բջիջների միտոտիկ բաժանման մեջ	388
Պոլոնսկայա Գ. Լ. Միկրոէլեմենտների տեղաշարժերը ջերմային ախտահարման ժամանակ ինտակտ և աղբյուրայէկտոմիայի ենթարկված սպիտակ առնետների մոտ	393
Ավազյան Հ. Մ., Նորավյան Հ. Ս. Աղբյուրների ռեցեպտորների ջերմաստիճանային վերափոխման շարքի շուրջը	400
Ղարիբջանյան Բ. Տ., Չաչոյան Ա. Ա., Աղաջանյան Ց. Ե. Սարկոլիզին պարունակող հոմոպոլիպեպտիդների անտիբյաստիկ ակտիվության մասին	405
Միխայելյան Ս. Գ. Որոշ քիմիական մուտագենների ազդեցության ուսումնասիրությունը բազիլիջանի մոտ	409
Ղոնյան Ս. Ա., Կարազոլյան Է. Ս., Փանոսյան Գ. Հ. էրիտրոցիտների էլեկտրակինետիկ պոտենցիալի մեծության փոփոխությունները էրլիխի սացիտային կարցինոմայի վարագցման ընթացքում	413

Համառոտ հաղորդումներ

Խաներաբյան Մ. Վ., Նազարյան Օ. Հ. Ուղեղի մեծ կիսագնդերի և ուղեղիկի ջրայում սպիտակուցների կազմի փոփոխությունները նորաղբյուրների սինապսների զրգոման ժամանակ	418
Չարչոյան Ա. Ա., Զախարյան Է. Գ., Կարազոլյան Կ. Ա., Սաֆարյան Ա. Ս., Ազարյան Ն. Հ., Զախարյան Ռ. Ա. GC—սպեցիֆիկ էնդոնուկլեազա <i>Bac. thuringiensis</i> 837 շտամից	422



Բարսյան Է. Ա., Բաղրամյան Ս. Բ., Պողոսյան Ա. Ս. Կենդանիների և մարդու օրգանիզմի վրա էթիլ և բուֆիլ քսանտոզենատների մուտագեն ազդեցության ուսումնասիրության արդյունքները	425
Նղիազարյան Ս. Ն. Կոֆեինով մոդիֆիկացված ճառագայթային վնասվածքի բջջազենեափկական ուսումնասիրությունը <i>Crepis capillaris</i> -ի մոտ	429

Լրատու

Մելիտեյան Ա. Ս., Հապետյանց Լ. Պ. VI Համաշխարհային նստաշրջանի՝ նվիրված ժիրանենու կուլտուրային	473
Մադաթյան Յու. Ա. II Համամիութենական նստաշրջանի՝ նվիրված սոմատիկ պոլիպլոիդիային	435

Քննադատություն և գրախոսություն

Մատիեյսև Ի. Ա., Ю. А. Спасскуоцкий, Н. В. Ильчевич, Л. И. Барченко, О. Л. Нищименко, Т. М. Зеленская, А. Г. Гонорэвский. Действие специфических цитотоксических сывороток на половые железы. 216 էջ, Կիև, 1977	437
--	-----

СО Д Е Р Ж А Н И Е

Экспериментальные

<i>Арутюнян А. А., Галфаян В. Т., Акопян Т. Н., Демирчян Д. К., Каранетян Р. О., Гелоян А. А.</i> Выделение и характеристика некоторых гипоталамических пептидов	347
<i>Хачатрян Г. С., Акопян А. А.</i> Активность цитоплазматической и митохондриальной глицерофосфатдегидрогеназ в мозге при естественных физиологических воздействиях	352
<i>Мхехян Э. Е., Соцкий О. П., Акопов С. Э.</i> К вопросу о механизме действия ганглиозидов на активность $\text{Na}^+ - \text{K}^+ - \text{ATP}$ азы микросом мозга	360
<i>Софиадис Н. Ф.</i> Электрофизиологический анализ коргико-церебеллярных связей у обезьян	365
<i>Геворкян Э. С., Джербашьян А. Р., Паносян Г. А.</i> Состав фракций негистоновых белков хроматина при гидрокортизоновой индукции у крыс	370
<i>Мелконян Д. С., Мкртчян О. А., Хондкарян Н. С.</i> Математическое описание некоторых закономерностей выделения медиатора синаптическими окончаниями	375
<i>Матюшичев В. Б., Таратухин В. Р., Шамратова В. Г.</i> Тепловой стресс и радиочувствительность некоторых ферментных систем организма	383
<i>Беджанова Л. П., Петросян Р. А., Степанян Э. Д.</i> О значении удаления гипофиза, надпочечников в постденервационных изменениях защитных функций РЭС и митотического деления клеток	388
<i>Полонская Г. Л.</i> Перераспределение микроэлементов в печени под влиянием термической травмы у интактных и адреналэктомированных крыс	393
<i>Авакян О. М., Норавин О. С.</i> К вопросу о трансформации адренергических рецепторов под действием температуры	400
<i>Гарибджанян Б. Т., Чачоян А. А., Агаджанян Ц. Е.</i> Антибластическая активность сарколизинсодержащих гомополипептидов	405
<i>Микаелян С. Г.</i> Цитогенетическое исследование влияния химических мутагенов на баклажан	409
<i>Гоян С. А., Карагулян Э. А., Паносян Г. А.</i> Изменение величины электрокинетического потенциала эритроцитов при развитии асцитной карциномы Эрлиха	413

Краткие сообщения

<i>Ханбабян М. В., Назарян О. А.</i> Изменения в составе воднорастворимых белков коры больших полушарий и мозжечка при стимуляции норадренергических синапсов	418
<i>Чарчоглян А. А., Захарян Э. Г., Карагезян К. С., Сафарян А. С., Азарян Н. Г., Захарян Р. А.</i> ГЦ—специфическая эндонуклеаза из <i>Vac. thuringiensis</i>	422
<i>Бабаян Э. А., Баграмян С. Б., Погосян А. С.</i> Изучения мутагенного действия этилового и бутилового ксантогенатов на организм животных и человека	425

- Егизарян С. Е.* Цитогенетическое исследование модификации кофеином радиационного поражения у *Speris capillaris* 429

Хроника

- Мелконян А. С., Апетьяц Л. П.* VI Международный симпозиум по культуре абрикоса 433
- Магакян Ю. А.* Второй Всесоюзный симпозиум по соматической полиллондии 435

Критика и библиография

- Матинян Л. А., Ю. А. Спасокукоцкий, Н. В. Ильчевич, Л. И. Барченко, О. В. Нищименко, Т. М. Зеленская, А. Г. Гоноровский* Действие специфических цитотоксических сывороток на половые железы. 216 с., Киев, 1977 437

ACADEMY OF SCIENCES OF THE ARMENIAN SSR
BIOLOGICAL JOURNAL OF ARMENIA

Founded in 1946

12 Issues per year

Vol. XXXI, № 4

YEREVAN

April, 1978

C O N T E N T S

Experimental

<i>Harutunian A. A., Galst'yan V. T., Akopyan T. N., Demirc'han J. K., Karapellian R. H., Galoyan A. A.</i> Isolation and characterization of some hypothalamic peptides	347
<i>Khachatryan G. S., Akopian A. A.</i> The activity of cytoplasmic and mitochondrial α -glycerophosphate dehydrogenase in brain under natural physiological action	352
<i>Mkheyan E. E., Sotsky O. P., Akopov S. E.</i> On the mechanism of influence of gangliosides on the activity of $\text{Na}^+ - \text{K}^+$ -ATPase of the brain microsomes	360
<i>Sofladis N. F.</i> Electrophysiological analysis of cortico-cerebellar connections in monkeys	365
<i>Gevorkian E. S., Cherbashyan A. R., Panosyan G. A.</i> The fraction composition of non-histone chromatin proteins during hydrocortizone induction in rats	370
<i>Melkonian D. S., Mkrtchyan H. H., Khondkarian N. S.</i> Mathematical description of some regularities of transmitter release by synaptic endings	375
<i>Matyushichev V. B., Taratukhin V. R., Shamratova V. G.</i> Thermal stress and radio-sensitiveness of some organism enzymatic systems	383
<i>Bedjanova L. P., Petrosyan R. A., Stepanyan E. D.</i> On the significance of pituitary gland removal and adrenalectomy in post-denervational changes of RES protective functions and mitotic cell division	388
<i>Polonskaya G. L.</i> Redistribution of microelements in liver under the influence of thermal injuries in intact and adrenalectomized rats	393
<i>Avakian O. M., Noravtjan H. S.</i> Transformation of adrenergic receptors under the influence of temperature	400
<i>Garibjanian B. T., Chachoyan A. A., Aghajanian Ts. E.</i> Antiblastic activity of sarcosine-containing homopolypeptides	405
<i>Mikaelian S. G.</i> The cytogenetic investigation of the influence of chemical mutagens on egg-plats	409
<i>Gonyan S. A., Karagulian E. A., Panosyan G. A.</i> The erythrocyte electrokinetic potential changing during the Ehrlich ascid carcinoma growth	413

Short Communications

<i>Khanbablan M. V., Nazarian O. A.</i> Changes in the composition of water-soluble proteins of the cerebral cortex and the cerebellum during noradrenergic synaptic stimulation	418
<i>Charchoghlian A. A., Zackarian E. G., Karagjozjan K. S., Safarjan A. S., Azarjan N. G., Zackarian R. A.</i> GC-specific endonuclease from <i>Bac. thuringiensis</i>	422

"Biological Journal of Armenia", 1978

345

<i>Babayan E. A., Bagramian S. B., Poghosyan A. S.</i> The results of examination of mutagen effect of the ethyl and bythyl ksandogenats on the organism of man and animal	425
<i>Eglazartan S. E.</i> Cytogenetic research of modification of radiation damage by coffeine in <i>Crepis capillaris</i>	429

Chronicle

<i>Melkonian A. S., Apetyants L. P.</i> The VI Intetnational Symposium on apricot culture and decline	433
<i>Magaklan Y. A.</i> The II All-Union Symposium on somatic polyploidy	435

Critique and Bibliography

<i>Matnian L. A.</i> Ю. А. Сласскукоцкий, Н. В. Ильевич, Л. И. Барченко, О. В. Нищименко, Т. М. Зеленская, А. Г. Гоноровский. Действие опецифических цитотоксических сывороток на половые железы. 216 р. р., Kiev, 1977 .	437
---	-----