

ՀԱՅԱՍՏԱՆԻ
ԿԵՆՍԱԲԱՆԱԿԱՆ
Հ Ա Ն Դ Ե Ս

БИОЛОГИЧЕСКИЙ
Ж У Р Н А Л
АРМЕНИИ

Издається с 1916 года
Այստան քենսիանայան անдес

Խմբագրական կոլեկիա՝ Ս. Մ. Ավագյան, Վ. Ե. Ազեմիսյան, Է. Կ. Աֆրիկյան (ղլխավոր խմբագիր), Զ. Կ. Բակլավադջյան, Զ. Կ. Բատիկյան, Ա. Շ. Գալստյան (ղլխ. խմբագրի տեղակալ), Ժ. Ի. Հակոբյան, Վ. Զ. Ղաղարյան, Կ. Ս. Մարչանյան (պատ. քարտուղար), Ս. Զ. Մովսիսյան:

Խմբագրական խորհուրդ՝ Ն. Ն. Ակրամովսկի, Վ. Շ. Աղաբաբյան, Զ. Ս. Ազեմյան, Է. Կ. Աֆրիկյան (խորհրդի նախագահ), Կ. Ն. Բաբաբյան, Ս. Ա. Բակունց, Գ. Ս. Դավթյան, Ա. Լ. Թախտաջյան, Պ. Ա. Խորշուդյան, Ս. Կ. Կարապետյան, Ծ. Զ. Հասրաբյան, Մ. Գ. Հովհաննիսյան, Լ. Լ. Հովսեփյան, Լ. Ս. Ղամբարյան, Ա. Ա. Մաթևոսյան, Մ. Խ. Չալախյան, Ս. Զ. Պողոսյան, Մ. Ե. Տեր-Մինասյան:

ԽՄԲԱԳՐՈՒԹՅԱՆ ՀԱՈՅՑԵՆ՝

Երևան—19, Բարեկամության, 24դ, Հեռ. 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. О. Мовсисян.

Редакционный совет: А. С. Аветян, В. Ш. Агабабян, Н. Н. Акрамовский, Э. А. Асратян, Э. К. Африкян (пред. совета), Д. Н. Бабаян, 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, 1979 г.

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

УЧАСТИЕ ТИРЕОИДНЫХ ГОРМОНОВ В РЕГУЛЯЦИИ АМФ-ДЕЗАМИНАЗНОЙ АКТИВНОСТИ МЫШЕЧНОЙ ТКАНИ

А. В. АРУТЮНЯН, Э. А. ГУЛЯН, Г. П. КЕГИЦИЯН, В. С. ОГАНЕСЯН

Тиреоидные гормоны играют важную роль в регуляции мышечной АМФ-дезаминазы, ингибируя активность фермента и существенно изменяя его чувствительность к различным эффекторам (АДФ, БФГК, ГТФ, одновалентные катионы). Наиболее выраженным эффектом обладают 3,3',5-трийод-L-тиронин и его аналоги.

АМФ-дезаминаза (АМФ-аминогидролаза, КФ 3, 5, 4, 6) широко распространена в животном организме и является одним из ключевых ферментов цикла пуриннуклеотидов [15, 27]. В регуляции ее активности в различных тканях участвует ряд низкомолекулярных органических и неорганических соединений [4, 5]. Недавно нами было обнаружено, что наряду с АТФ и одновалентными катионами, эффективными активаторами АМФ-дезаминазы в мозговой ткани являются тиреоидные гормоны, особенно 3,3',5-L-тиронин и некоторые его производные [3].

В связи с этим мы задались целью изучить действие тиреоидных гормонов на активность АМФ-дезаминазы в других, кроме мозга, органах и прежде всего в скелетных мышцах, которые отличаются наиболее высокой активностью этого фермента [15, 17].

Материал и методика. Опыты были поставлены на белых крысах массой 180—200 г. Животных декапитировали, извлекали мышцу бедра и гомогенизировали ее в 9 объемах охлажденного К-фосфатного буфера, рН 6,5, содержащего (в мМ): 18-КCl; 5,4-КН₂РO₄ и 3,5-К₂НРO₄. Гомогенат центрифугировали 30 мин при 12 000 г на центрифуге К-24 для осаждения ядер и митохондрий. К полученной растворимой фракции добавляли 1 мМ дитиотриэтола (Sigma, США) для стабилизации фермента. В качестве источника фермента использовали 0,2—0,3 мл растворимой фракции, разведенной в соотношении 1:10 0,05 М имидазол-НCl буфером, рН 6,6 (0,12—0,18 мг белка).

Активность АМФ-дезаминазы определяли по приросту аммиака [4] при 30-минутной инкубации при 37° растворимой фракции и выражали в мкмоль/мг белка. Инкубационная среда в объеме 1,5 мл содержала: 5 мкМ/мл АМФ, 50 мкМ имидазол-НCl буфера, рН 6,6 и различные концентрации тиреоидных гормонов и их производных: 3,3',5-трийод-L-тиронин, 3,5-дйод-L-тиронин, 3,3',5-трийодтиреоксусую и 3,3',5-трийодпропиновую кислоты, 3,5-дйод-L-тирозин, 3-монойод-тирозин, L-тиронин (Sigma, США) и L-тироксин (Reanal, ВНР). В отдельных опытах в реакционную среду вносили также 5 мкМ/мл АДФ и 0,5 мг кристаллической дрожжевой гексокиназы, 2 мкМ/мл ГТФ (Sigma, США) и по 10 мкМ/мл KCl или КН₂РO₄. Белок определяли по методу Лоури и сотр. [16].

Результаты и обсуждение. Эксперименты показали, что исследуемые соединения по-разному действуют на активность мышечной АМФ-

дезаминазы (табл. 1). Тироксин (T_4) в концентрации 0,1 мкМ/мл не оказывает влияния на активность фермента, тогда как 3,3',5-трийод-L-тиронин (T_3) и его производные—3,3',5-трийодтиреоксусная (T_3A) и 3,3',5-тиреопропионовая (T_3B) кислоты в той же концентрации резко подавляют АМФ-дезаминазную активность (на 49,5, 84,5 и 94,9% соответственно). При снижении концентрации этих соединений до 0,05 мкМ/мл ингибирующий эффект T_3A и T_3B уменьшается до 51,6 и 75,7% соответственно, а действие T_3 вовсе не проявляется.

Таблица 1

Действие различных тиреоидных гормонов, их производных и некоторых йодсодержащих соединений на АМФ-дезаминазную активность растворимой фракции мышц крысы, мкМ аммиака/мг белка

Ингредиенты, мкмоль/мл		Активность фермента
АМФ	5,0	8,73±0,24 (20)*
Тироксин	0,1	8,5 ±0,55 (7)
	0,05	8,34±0,3 (9)
Трийодтиронин	0,1	4,46±0,05 (9)
Дийодтиронин	0,1	7,4 ±0,63 (8)
Тионин	0,1	9,3 ±1,02 (6)
Трийодтиреоксусная кислота	0,05	4,2 ±0,32 (11)
	0,1	1,35±0,04 (8)
Трийодтиреопропионовая кислота	0,05	2,12±0,08 (6)
	0,1	0,44±0,03 (6)
Моноидтирозин	0,1	8,34±0,13 (6)
Дийодтирозин	0,1	7,88±0,13 (7)
I ₂	0,1	9,02±0,5 (6)
	0,2	8,39±0,07 (6)
	0,5	0

* Здесь и далее в скобках количество опытов.

Из данных табл. 1 видно также, что 3,5-дийод-L-тиронин (T_2) и тионин также как 3-йод-L-тирозин (МИТ) и 3,5-дийод-L-тирозин (ДИТ) не влияют на активность мышечной АМФ-дезаминазы.

Полученные данные свидетельствуют о специфичности действия T_3 и его производных на активность АМФ-дезаминазы мышечной ткани, так как тиреоидные соединения с меньшим (T_2) или большим (T_4) содержанием йода не оказывают ингибирующего действия на активность фермента. Следовательно, в проявлении тормозящего эффекта тиреоидных соединений на активность мышечной АМФ-дезаминазы важное значение имеет количество атомов йода тирониновой части молекулы и структура ее боковой цепи.

Основным путем обмена тиреоидных гормонов в периферических тканях является их дейодирование с образованием активных йодных радикалов. Высокую по сравнению с T_4 биологическую активность T_3 [9] некоторые авторы объясняют его более интенсивным дейодированием [29], и это позволяет предположить, что наблюдаемый нами эффект тиреоидных гормонов на активность мышечной АМФ-дезаминазы может быть связан с действием йодидов, которые подавляют активность

тиоловых ферментов путем связывания SH-групп [11, 28]. Однако последнее в наших экспериментах следует исключить, поскольку молекулярный йод в той концентрации, в которой использовались тиреоидные соединения (0,1 мкМ/мл), не действует на активность мышечной АМФ-деаминазы и ингибирует ее лишь в концентрации 0,5 мкМ (табл. 2).

Подавление активности АМФ-деаминазы в мышечной ткани под влиянием T_3 и его аналогов представляет значительный интерес, так как T_3 может образоваться в периферических тканях [18, 22, 25] и подвергаться в них дальнейшим превращениям с модификацией боковой цепи [5]. Следует отметить, что в скелетных мышцах происходит дейодирование T_4 [10] и образуются уксуснокислые и молочнокислые производные T_3 [26].

Нами были проведены некоторые кинетические исследования процесса ингибирования активности мышечной АМФ-деаминазы под влиянием тиреоидных гормонов. Установлено, что кривая зависимости активности АМФ-деаминазы от концентрации ферментного белка носит сигмовидный характер (рис. 1). В присутствии тиреоидных соединений, особенно T_3A , степень сигмовидности кривой возрастает.

Кривая зависимости активности АМФ-деаминазы от концентрации субстрата также имеет типичную сигмовидную форму (рис. 2). Получен-

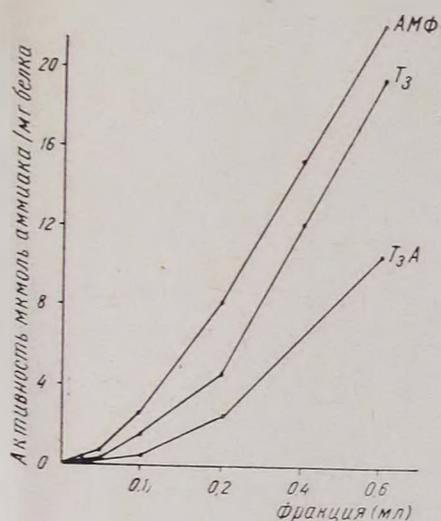


Рис. 1.

Рис. 1 Зависимость ингибирующего эффекта T_3 и T_3A на АМФ-деаминазную активность от концентрации ферментного белка.

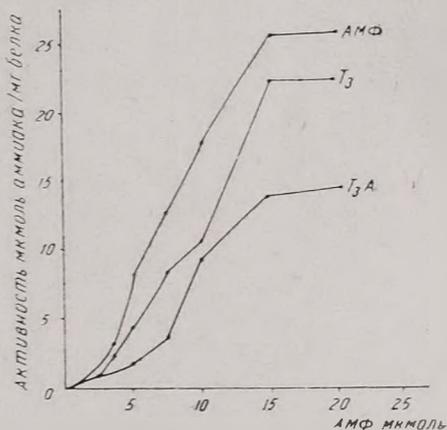


Рис. 2.

Рис. 2 Зависимость ингибирующего эффекта T_3 и T_3A на АМФ-деаминазную активность от концентрации субстрата.

ная нами кривая характерна для АМФ-деаминазы скелетных мышц, являющейся аллостерическим ферментом [21, 23]. В присутствии тиреоидных гормонов S-образность кривой усиливается, что может свиде-

Таблица 2

Действие различных эффекторов на АМФ-дезампназную активность растворимой фракции мышц крысы в присутствии T_3A , мкмоль аммиака/мг белка

Условия опыта	АМФ	АДФ	АТФ	БФГК	KCL	ГТФ		Фн		T_3A	
						$2 \cdot 10^{-3} M$	$5 \cdot 10^{-3} M$	$10^{-4} M$	$10^{-5} M$		
Контроль (без предынкубации) + T_3A ($10^{-4} M$)	11,02±0,6	30,67±1,5	25,3±1,03	22,12±1,4	21,93±1,7	8,26±0,8	7,6±0,4	0,66±0,18	10,9±0,5	—	—
	0,66±0,18	11,29±0,5	12,0±0,7	1,35±0,1	1,86±0,1	3,68±0,3	3,5±0,01	—	—	—	—
	(10)	(8)	(8)	(8)	(8)	(8)	(8)	(10)	—	—	—
Предынкубация 15 мин без добавок + T_3A ($10^{-5} M$) АДФ ($5 \cdot 10^{-3} M$)	5,0±0,1	7,52±0,08	—	5,68±0,1	8,6±0,18	8,78±0,22	2,98±0,2	—	2,36±0,02	—	—
	2,05±0,09	2,95±0,1	—	2,2±0,21	3,68±0,28	6,0±0,5	1,2±0,1	—	—	—	—
	22,8±0,98	—	—	24,0±0,21	22,5±0,7	20,4±0,8	21,1±0,6	8,73±0,02	19,25±0,12	—	—
	(12)	(9)	—	(9)	(9)	(11)	(10)	(10)	(10)	(10)	(10)

тествовать об аллостерической природе вызванного ими ингибирования активности фермента.

T_3A и, особенно $T_3П$, вызывают заметное ингибирование активности фермента уже в концентрации 0,025 мкмоль, при повышении их концентрации до 0,1 мкмоль степень ингибирования возрастает (рис. 3). При предынкубации растворимой фракции на фоне снижения контрольного уровня активности значительно повышается чувствительность фермента к тиреоидным гормонам, что видно на примере действия T_3A . В случае предынкубации фермента с этим ингибитором практически полное ингибирование наблюдается при использовании T_3A в концентрации 0,025 мкмоль.

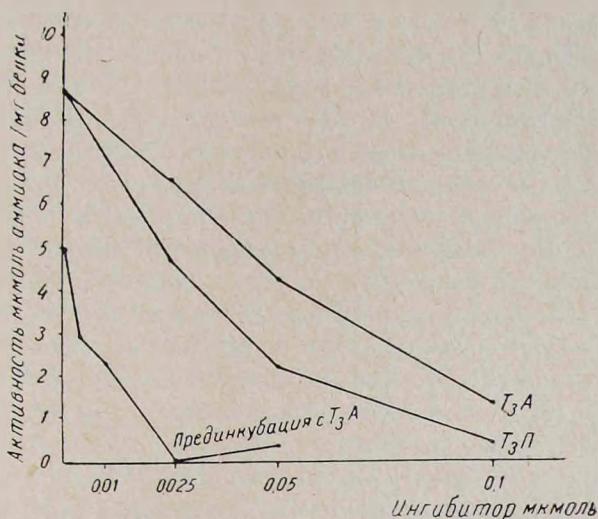


Рис. 3. Зависимость ингибирующего эффекта тиреоидных соединений на АМФ-дезаминазную активность от их концентрации.

Представляло интерес изучение действия тиреоидных гормонов в присутствии других эффекторов мышечной АМФ-дезаминазы. В экспериментах мы использовали T_3A , ингибирующий эффект которого, как и $T_3П$, выражен более заметно по сравнению с T_3 . Из приведенных в табл. 2 данных явствует, что наиболее эффективными активаторами фермента являются адениннуклеотиды—АДФ, АТФ. Несколько менее выражено действие ионов калия и белкового фактора (БФГК), обнаруженного нами ранее в препарате дрожжевой гексокиназы. Примечательно, что T_3A действует на фермент несравненно сильнее, чем ГТФ и фосфат, относящиеся к числу наиболее изученных ингибиторов мышечной АМФ-дезаминазы [13, 14, 19]. Причем применяемая нами концентрация T_3A меньше концентрации ГТФ и фосфата соответственно в 20 и 50 раз. Ингибирующий эффект T_3A ослабевает в присутствии АДФ и АТФ и в некоторой степени—ГТФ. При наличии в среде БФГК и фосфата отмечается сильное ингибирование фермента со стороны T_3A .

Из представленных данных видно также, что в процессе предынку-

бацци фермент частично инактивируется и его чувствительность к АДФ значительно ослабевает. Активирующее влияние калия при этом более выражено по сравнению с АДФ, а БФГК не оказывает никакого действия на активность фермента. Совершенно по-разному проявляется действие ингибиторов: если ингибирующее влияние фосфата сохраняется, то ГТФ повышает активность фермента более чем на 70%.

При предынкубации фермента с T_3A его активность снижается в большей степени, чем в отсутствие добавок. При этом значительно инактивированный фермент, утратив чувствительность к большинству эффекторов, активируется со стороны ГТФ и КСЛ. Характерно также, что в условиях предынкубации фермента с T_3A эффективная концентрация ингибитора равна 10^{-5} М, т. е. на порядок меньше, чем в опытах без нее.

Предынкубация с АДФ приводит к тому, что при последующем добавлении всех эффекторов АМФ-деаминазы, кроме T_3A , проявляется действие АДФ. Интересно, что T_3A ингибирует фермент и в этих условиях, хотя АДФ в какой-то мере предохраняет последний от тормозящего действия T_3A , так как ингибирующая концентрация T_3A в этом случае, как и в опытах без предынкубации фермента, равна 10^{-4} М.

Известно, что мышечная АМФ-деаминаза является тетрамером, распадающимся под влиянием различных диссоциирующих агентов на идентичные неактивные мономеры [8, 20]. Не исключено, что в условиях наших опытов при предынкубации фермента в отсутствие добавленных эффекторов активность фермента падает вследствие его диссоциации на субъединицы. Наличие в среде аллостерического активатора АДФ во время предынкубации препятствует инактивированию фермента. Однако добавление АДФ к предынкубированному в отсутствие эффекторов ферменту приводит к незначительному повышению его активности, между тем как КСЛ или ГТФ в этих условиях более эффективны.

Данные об активирующем влиянии ГТФ на активность фермента в этих условиях представляют, на наш взгляд, определенный интерес, так как известно, что в различных тканях, в том числе и мышечной, ГТФ обычно ингибирует АМФ-деаминазу. Однако в опытах с гомогенатами скелетных мышц установлено, что ГТФ может оказывать как стимулирующее, так и подавляющее влияние на активность АМФ-деаминазы в зависимости от концентрации субстрата [6].

Активирование АМФ-деаминазы в присутствии низких концентраций субстрата выявлено также в печени [24]. Аналогичные данные были получены в отношении действия ГТФ на АМФ-деаминазную активность эритроцитов кролика [12].

Механизм этого явления не представляется ясным, хотя очевидно, что противоположный эффект ГТФ обусловлен различным конформационным состоянием фермента. В этой связи интересны полученные нами данные о том, что при низких концентрациях ферментного белка ингибирующий эффект ГТФ в отношении отдельных изоферментов АМФ-деаминазы мозга не проявляется, что может быть обусловлено изменением степени агрегации фермента [2].

Таким образом, проведенные нами исследования показали, что тиреоидные гормоны играют важную роль в регуляции мышечной АМФ-дезаминазы, сильно ингибируя активность фермента и существенным образом изменяя его чувствительность к различным эффекторам. Выше было отмечено, что тиресидные гормоны заметно активируют АМФ-дезаминазу мозговой ткани [3]. Характерно, что в обоих случаях наиболее выраженным эффектом среди всех тиреоидных гормонов обладают T_3 и его аналоги. Результаты отдельной серии исследований свидетельствуют о том, что тиреоидные гормоны не влияют на активность фермента в печени, почках и сердечной мышце (неопубликованные данные).

К числу основных физиологических функций АМФ-дезаминазы относится стабилизация энергетического заряда в клетке путем поддержания оптимального соотношения адениннуклеотидов [7]. Исходя из этого, представляется целесообразным, что в скелетных мышцах, обладающих наиболее высокой по сравнению с другими органами АМФ-дезаминазной активностью, тиреоидные гормоны ингибируют фермент, способствуя накоплению АМФ и тем самым его дальнейшему фосфорилированию. В мозге же, где активность АМФ-дезаминазы в отсутствие добавленных активаторов очень низкая, тиреоидные гормоны активируют фермент, препятствуя сохранению избыточных количеств аденозинфосфатов. Возможно, в этом заключается роль тиреоидных гормонов в осуществлении контроля над энергетическим балансом в мышечной и мозговой тканях посредством регуляции АМФ-дезаминазы.

Институт биохимии АН АрмССР

Поступило 30.V 1979 г.

ԹԻՐԵՈԻԴ ԷՆՐՄՈՆՆԵՐԻ ՄԱՍՆԱԿՑՈՒԹՅԱՆԸ ՄԿԱՆԱՅԻՆ ԷՅՈՒՍՎԱԾՔԻ ԱՄՑ-ԳԵՁԱՄԻՆԱԶԱՅԻՆ ԱԿՏԻՎՈՒԹՅԱՆ ԿԱՐԳԱՎՈՐՄԱՆԸ

Ա. Վ. ՀԱՐՈՒԹՅՈՒՆՅԱՆ, Է. Ա. ԳՈՒԼՅԱՆ, Գ. Պ. ԿԵՉԻՇՅԱՆ,
Վ. Ս. ՕԳԱՆԵՍՅԱՆ

Մկանային ԱՄՑ-դեզամինազային ակտիվության կարգավորման գործում կարևոր դեր են խաղում թիրեոիդ հորմոնները, որոնք արգելակում են ֆերմենտի ակտիվությունը և էականորեն փոխում նրա զգայունությունը տարբեր էֆեկտորների հանդեպ (ԱԴՑ, ԳՏՑ, հեքսոկինազայի սպիտակուցային ֆակտորը, միավալենտ կատիոններ):

Արտահայտված էֆեկտով են օժտված 3,3',5-երեքյոդ-Լ-թիրոնինը և նրա ածանցյալները:

Թիրեոիդ հորմոնները չեն ազդում լյարդի, երիկամների և սրտամկանի ԱՄՑ-դեզամինազայի ակտիվության վրա:

THE ROLE OF THYREOID HORMONES IN REGULATION OF SKELETAL MUSCLE AMP-DEAMINASE ACTIVITY

A. V. HAROUTUNIAN, E. E. GULIAN, G. P. KECHISHIAN, V. S. OGANESSIAN

It has been established that thyreoid hormones play an important role in regulation of muscle AMP-deaminase activity. They inhibit enzy-

me activity and considerably change its sensibility to different effector (ADP, GTP, protein factor of hexokinase, monovalent cations).

Among thyreoid hormones tested the most effective are 3, 3', 5-thyreido-L-Thyronine and its analoges.

Л И Т Е Р А Т У Р А

1. Арутюнян А. В. Вопросы биохимии мозга, 9, 251, Ереван, 1974.
2. Арутюнян А. В., Ловенштейн Дж. М. Вопросы биохимии мозга, 12, 29, Ереван, 1977.
3. Гулян Э. А., Кегисян Г. П., Арутюнян А. В. и Оганесян В. С. Биолог. ж. Армения, 31, 141, 1978.
4. Силакова А. Н., Груш Г. П., Являкова Я. А. Вопросы мед. химии, 8, 538, 1962.
5. Туракулов Я. Х. В кн.: Тиреоидные гормоны, Ташкент, 1972.
6. Brady T. G., Costello J. T. Biochem. Biophys. Acta, 350, 455, 1974.
7. Chapman A. G., Atkinson D. E. J. Biol. Chem., 248, 8309, 1973.
8. Coffee C. J., Kofke W. A. J. Biol. Chem., 250, 6653, 1975.
9. Cross J. R., Pitt-Rivers R. Biochem. J., 15, 53, 645, 1953.
10. Haibach H. Endocrinology, 88, 918, 1971.
11. Hoch T. L. Physiol. Rev., 42, 605, 1962.
12. Kawamura Y. J. Biochemistry (Japan), 72, 21, 1972.
13. Lee Y. P. J. Biol. Chem., 227, 999, 1957.
14. Lee Y. P., Wang M. H. J. Biol. Chem., 243, 226, 1968.
15. Lowenstein J. M. J. Biol. Chem., Physiol. Rev., 52, 382, 1972.
16. Lowry O. H., Rosebrough W. J., Farr A. L., Randall K. J. J. Biol. Chem., 193, 265, 1951.
17. Purzycka I. Acta Biochim. Polon., 9, 83, 1962.
18. Rabinowitz J. I., Herekera E. S. Science, 173, 1242, 1971.
19. Ronca-Testoni S., Ranieri M., Raggi A., Ronca G. Ital. J. Biochem., 15, 262, 1970.
20. Ronca-Testoni S., Ranieri M., Ronca G. Ital. J. Biochem., 19, 262, 1970.
21. Ronca-Testoni S., Ronca G. J. Biol. Chem., 249, 7723, 1974.
22. Schwartz H. L., Surts M. T., Oppenheimere J. S. Clin. Invest., 50, 1124, 1971.
23. Smiley K. L., Suelter C. H. J. Biol. Chem., 242, 1980, 1967.
24. Smith L. D., Kyzer D. E. Biochem. Biophys. Acta, 191, 415, 1963.
25. Sterling R., Brenner M. A., Newman E. S. Science, 169, 1099, 1970.
26. Tata J. R. Proc. Soc. exptl. Biol. Med., 95, 362, 1957.
27. Tornheim K., Lowenstein J. M. J. Biol. Chem., 247, 162, 1972.
28. Varone S., Cosiglo E., Covelli J. Europ. J. Biochem., 13, 305, 1970.
29. Wynn J. Arch. Biochem. Biophys., 126, 880, 1968.
30. Zielke C. L., Suelter C. H. In Enzymes 3rd Ed., 4, 47, 1971.

ВЛИЯНИЕ ОКТАГИДРОНАФТОАЗЕПИНОВ НА АКТИВНОСТЬ
МОНОАМИНОКСИДАЗЫ И СОДЕРЖАНИЕ СЕРОТОНИНА
И НОРАДРЕНАЛИНА В МОЗГЕ КРЫС

Р. Р. САФРАЗБЕКЯН, Р. С. СУКАСЯН, Э. М. АРЗАНУНЦ

В опытах *in vitro* *цис* и *транс* конформанты N-незамещенных и N-этил нафтоазепинов тормозят активность моноаминоксидазы мозга. N-метил нафтоазепины активируют фермент в малых дозах и тормозят в больших.

В опытах *in vivo* *транс* конформанты N-метил и N-этил нафтоазепинов угнетают дезаминирование серотонина и повышают его содержание в мозге крыс. *Цис* конформанты нафтоазепинов истощают запасы норадреналина в мозге, но не влияют на активность моноаминоксидазы.

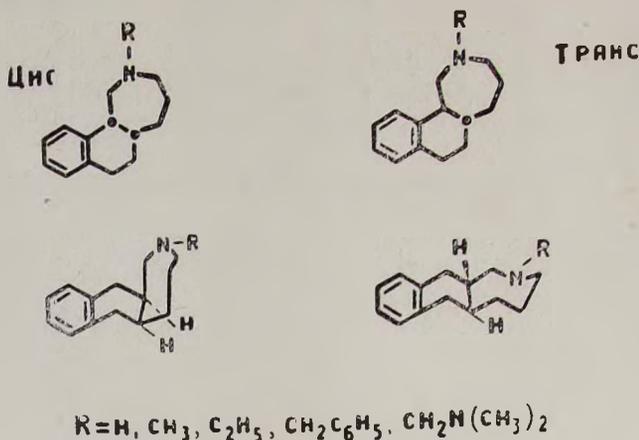
В настоящее время в психофармакологии прочно утвердились в качестве антидепрессивных средств производные дигидродибензаземина (имизин, дезипрамин), дибензоциклогептадина (амитриптилин, нор-триптилин) и другие. Характерной особенностью этих трициклических соединений является способность угнетать механизмы захвата биогенных аминов аксональной мембраной в периферических органах и центральной нервной системе [7, 15]. Угнетение мембранного захвата аминов—важный, но, очевидно, не единственный механизм действия трициклических антидепрессантов. Имеются сведения о том, что трициклические антидепрессанты вмешиваются также в интранейрональные процессы депонирования и высвобождения аминов [12, 17]. О возможном влиянии на внутриклеточные процессы свидетельствует торможение активности моноаминоксидазы (МАО) мозга, печени, сердца имизином, дезипрамином, иприндолом и другими препаратами [8, 14].

В отличие от дибензазепинов, азепиновое кольцо которых расположено между двумя бензольными, мало изучены трициклические гетероциклы, полученные на основе нафталина [2, 10]. В ИТОХ АН АрмССР Бояхчян и др. [1] синтезирован ряд замещенных (1 Н) 2, 3, 4, 5, 6, 7, 11-октагидронафт (1, 2-с) азепинов, в которых азепиновое кольцо конденсировано у насыщенного цикла нафталинового ядра. Такое строение позволило получить для каждой структуры два конформанта—*цис* и *транс*.

Ниже представлены данные о влиянии *цис* и *транс* нафтоазепинов с R=H, CH₃ и C₂H₅ на активность МАО и содержание серотонина (5-ОТ) и норадреналина (НА) в мозге крыс.

Материал и методика. Использованы крысы-самцы массой 150—200 г. В опытах *in vitro* источником МАО служили митохондрии мозга и печени, выделенные методом

дифференциального центрифугирования [16]. Фермент инкубировали в течение 30 мин с исследуемыми соединениями, использованными в концентрациях 1×10^{-9} , 1×10^{-8} , 1×10^{-6} , 1×10^{-1} и 1 мкмоль/мл. Субстраты серотонин креатининсульфат (Джи Лоусон Кемикалз, ЛТД) и парадrenalин битартрат (Харьковский завод эндокринных препаратов) добавляли к пробам по 10 и 20 мкмоль соответственно. Состав инкубационной среды, условия инкубации и фиксации проб описаны ранее [3]. Об активности МАО судили по количеству образовавшегося азота, выраженному в мкг/мл пробы.



В опытах *in vivo* препараты вводили крысам подкожно в дозе 30 мг/кг за 1, 3 и 18 час. до декапитации. Активность МАО определяли в 50%-ных гомогенатах мозга, как описано ранее [5]. Об интенсивности дезаминирования судили по количеству образовавшегося аммиака, выраженному в нмоль/мг белка.

Амины (5-ОТ и НА) выделяли из гомогенатов мозга методом ионообменной хроматографии на смоле Амберлит IRC-50 (Na^+ форма) и определяли спектрофлуориметрически [6]. Их количество выражали в мкг/г ткани. Полученные результаты обработаны статистически по Стьюденту-Фишеру.

Результаты и обсуждение. В опытах *in vitro* *транс* конформанты исследованных нафтоазепинов в дозах 1×10^{-8} —1 мкмоль/мл тормозят дезаминирование 5-ОТ на 70—100% (рис. 1). *Цис* конформанты незамещенного и N-метил нафтоазепинов в дозах 1×10^{-6} — 1×10^{-2} мкмоль/мл по активности уступают *транс* соединениям. Более того, как видно из рис. 1, *цис* N-метил нафтоазепины в дозе 1×10^{-6} мкмоль/мл угнетают дезаминирование 5-ОТ в одних опытах и активируют—в других, преимущественно в пробах с низкой активностью фермента. *Цис* и *транс* N-этил нафтоазепины влияют на дезаминирование 5-ОТ одинаково.

Как видно из рис. 2, при использовании НА в качестве субстрата *транс* конформант незамещенного нафтоазепина в дозах 1 — 1×10^{-6} мкмоль/мл тормозит дезаминирование НА на 85—90, а в дозе 1×10^{-8} мкмоль/мл — на 22%. Характер действия *цис* аналога на дезаминирование НА подобен действию *транс* соединения, но выражен слабее. Действие N-метил нафтоазепинов на дезаминирование НА зависит от дозы. В дозе 1 мкмоль/мл оба соединения тормозят МАО. При уменьшении ее

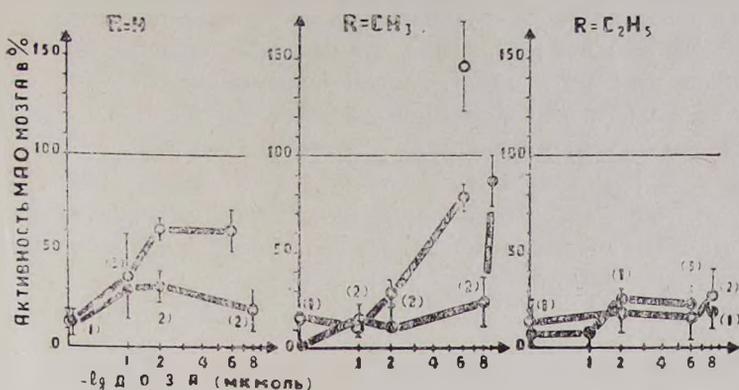


Рис. 1. Влияние нафтазепинов на дезаминирование 5-ОТ митохондриальной MAO мозга крыс *in vitro*. Зависимость действия от дозы. Условные обозначения: 0—0—*цис* форма, 0—0—*транс* форма. Среднее высчитано из 4—6 опытов, вертикальные линии — стандартные ошибки. (1) — $P < 0.001$; (2) — $P < 0.01$; (3) — $P < 0.05$.

в 10 раз отмечено двойное действие препаратов: торможение фермента в одних опытах и активация — в других. И активация, и торможение статистически достоверны. В дозах 1×10^{-8} , 1×10^{-7} и 1×10^{-6} мкмоль/мл оба конформанта не оказывают существенного влияния на активность MAO. Однако в дозе 1×10^{-9} мкмоль/мл *транс* N-метил нафтазепин во всех опытах отчетливо активирует фермент в отношении НА. Двойное действие на дезаминирование НА отмечено также у N-этил нафтазепинов, однако оба соединения оказывают преимущественно ингибирующее действие (рис. 2).

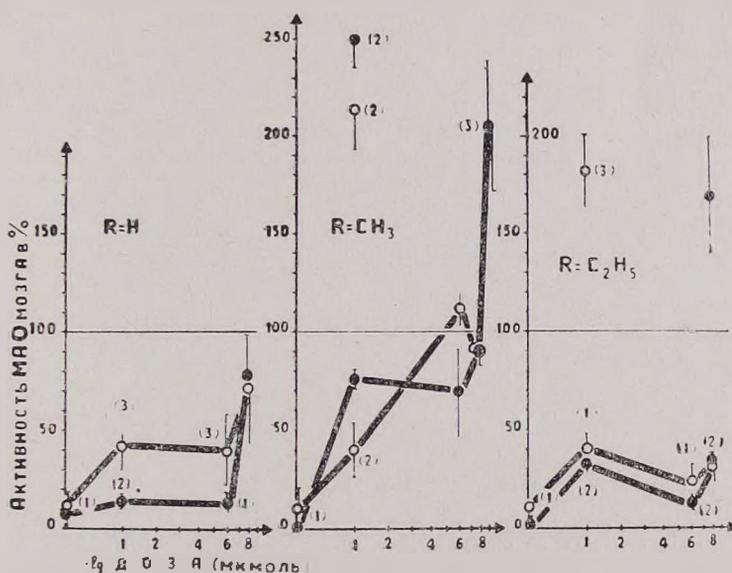


Рис. 2. Влияние нафтазепинов на дезаминирование НА митохондриальной MAO мозга крыс *in vitro*. Условные обозначения: см. рис. 1.

В опытах *in vivo* через 1 час после инъекции *транс* конформанты N-метил и N-этил нафтоазепинов повышают, а их *цис* аналоги, как и N-незамещенные нафтоазепины не оказывают существенного влияния на содержание 5-ОТ в мозге (табл. 1). Как видно из табл. 2, накоплению 5-ОТ в мозговой ткани сопутствует статистически достоверное угнетение его дезаминирования.

Таблица 1

Влияние нафтоазепинов на содержание 5-ОТ и НА в мозге крыс (препараты введены подкожно в дозе 30 мг/кг за 1 час до декапитации)

R	Конформация	Содержание аминов, мкг/г	
		5-ОТ	НА
Физиологический раствор		0,40±0,02 (9)*	0,47±0,02 (9)
H	<i>цис</i>	0,35±0,02 (5)	0,37±0,01 (7) P<0,01
H	<i>транс</i>	0,42±0,04 (7)	0,48±0,04 (7)
CH ₃	<i>цис</i>	0,43±0,05 (6)	0,36±0,01 (7) P<0,01
CH ₃	<i>транс</i>	0,51±0,04 (6) P<0,05	0,44±0,02 (4)
C ₂ H ₅	<i>цис</i>	0,44±0,02 (6)	0,33±0,01 (6) P<0,001
C ₂ H ₅	<i>транс</i>	0,55±0,03 (7) P<0,01	0,44±0,03 (7)

* Здесь и далее в скобках — число животных в группе.

Таблица 2

Влияние *транс* конформантов N-метил и N-этил нафтоазепинов (30 мг/кг) на содержание 5-ОТ и его дезаминирование в мозге крыс

Препарат	Изменения, %	
	Содержание 5-ОТ	Активность MAO
<i>Транс</i> N-метилнафтоазепин	(+) 0,28±10 (6) P<0,05	(-) 42±10 (4) P<0,02
<i>Транс</i> N-этилнафтоазепин	(+) 32±7 (7) P<0,01	(-) 52±8 (6) P<0,01

* % к контролю: (+)—повышение, (—)—угнетение.

Цис конформанты нафтоазепинов (30 мг/кг) понижают содержание НА в ткани мозга спустя 1 час после инъекции, тогда как *транс* аналоги не влияют на содержание амина (табл. 1). В этих условиях ни одно из

исследованных соединений не влияет на активность MAO в отношении НА.

В настоящее время мало сведений о конформационных изменениях, имеющих место при взаимодействии вещества с рецептором (или ферментом). Как показали исследования последних лет, биогенные амины (НА, 5-ОТ, допамин) в солидном состоянии имеют предпочтительно *транс* (анти) конформацию [9, 13]. Выдвинута гипотеза [11], согласно которой молекулы многих веществ соединяются с рецепторами в нековалентные комплексы в своей предпочтительной конформации. В этом аспекте вещества, далекие друг от друга по химическому строению, могут конкурировать за одни и те же рецепторы в силу общности пространственного строения. О значении конформации для антимоноаминоксидазного действия веществ можно, очевидно, судить по примеру 2-фенилциклопропиламина, используемого в качестве ингибитора MAO именно в *транс* форме (трансамин). В ряду исследованных нафтазепинов *транс* конформанты в опытах *in vitro* более активные ингибиторы MAO, чем их *цис* аналоги. В опытах *in vivo* *транс* N-метил и N-этил нафтазепины отчетливо угнетают дезаминирование 5-ОТ и повышают содержание амина в ткани мозга. *Цис* аналоги на активность MAO и на содержание 5-ОТ не влияют. Эти особенности не могут быть объяснены различной проницаемостью гемато-энцефалического барьера для конформантов, поскольку *цис* соединения истощают запасы НА в мозге, что свидетельствует об их поступлении в центральную нервную систему.

Таким образом, характер действия исследуемых нафтазепинов на MAO зависит как от их структуры, так и от дозы и исходной активности фермента: в больших дозах препараты тормозят MAO, в маленьких дозах и (или) при низкой активности фермента — активизируют его. Подобное двоякое действие описано нами ранее при исследовании гидразидов и дигидразидов индолил пропаноновых кислот [3—5]. По-видимому, активация — начальная стадия действия ингибиторов MAO.

Институт тонкой органической химии
АН АрмССР

Поступило 31. I 1979 г.

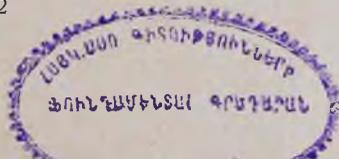
ՕԿՏԱԷԻԲՐՈՆԱՅՏՈԱԶԵՊԻՆՆԵՐԻ ԱԶԳԵՑՈՒԹՅՈՒՆԸ ՄՈՆՈԱՄԻՆ-
ՕՔՄԻԿԱԶԱՅԻ ԱԿՏԻՎՈՒԹՅԱՆ ԵՎ ՍԵՐՈՏՈՆԻՆԻ ՈՒ ՆՈՐԱԴՐԵՆԱԼԻՆԻ
ՊԱՐՈՒՆԱԿՈՒԹՅԱՆ ՎՐԱ ԱՌԵՏՆԵՐԻ ՈՒՂԵՂՈՒՄ

Ո. Ո. ՍԱՅՐԱԶՐԵԿՅԱՆ, Բ. Ս. ՍՈՒՔԱՍՅԱՆ, Է. Մ. ԱՐՁԱՆՈՒՆՅ

In vitro փորձերում N-շտեղակալված և N-էթիլ նաֆտոազեպինների ցիս- և տրանս- ձևերը 1 մկմոլ/մլ մինչև 1×10^{-8} մկմոլ/մլ դոզաներով արգելակում են մոնոամինօքսիդազայի ակտիվությունը: N-մեթիլ նաֆտոազեպինների փոքր դոզաները խթանում են ֆերմենտի ակտիվությունը, իսկ մեծը՝ արգելակում այն:

In vivo փորձերում տրանս-N-մեթիլ և տրանս-N-էթիլ նաֆտոազեպինները 30 մգ/կգ դոզայով արգելակում են սերոտոնինի մետաբոլիզմը և նպաստում են նրա կուտակմանը առնետների ուղեղում: Նաֆտոազեպինների ցիս-կոնֆորմանտները իջեցնում են նորադրենալինի քանակը ուղեղում և չեն ազդում մոնոամինօքսիդազայի ակտիվության վրա:

727



OCTAHYDRONAPHTHAZEPINE INFLUENCE ON MONOAMINE OXIDASE ACTIVITY AND CONTENT OF SEROTONIN AND NORADRENALINE IN RAT BRAIN

R. R. SAFRAZBEKIAN, R. S. SUKASIAN, E. M. ARZANUNTZ

Cis and trans conformers on non-substituted and N-ethylnaphthazepines at doses from 1 to 1×10^{-8} mk mole/ml in vitro experiments inhibit monoamine oxidase activity in rat brain. At small doses N-methylnaphthazepines activate the enzyme, while at large—inhibit it.

Trans N-methyl- and N-ethylnaphthazepines at 30 mg/kg inhibit in vivo serotonin deamination and increase its level in rat brain. Cis naphthazepine conformers deplete noradrenaline supplies in brain but do not affect monoamine oxidase activity.

Л И Т Е Р А Т У Р А

1. Бояхчян А. П., Сганесян Л. Л., Татевосян Г. Т. Арм. хим. ж. 24, 11, 1000, 1971.
2. Горкин В. З., Точилкин А. И., Андреева Н. А., Машковский М. Д., Журазлева Г. В., Колесникова М. А. Фармакология и токсикология, 6, 651—654, 1974.
3. Сафразбекян Р. Р., Сукасян Р. С. Биолог. ж. Армении, 22, 10, 43—49, 1969.
4. Сафразбекян Р. Р., Сукасян Р. С. Биолог. ж. Армении, 23, 9, 31—38, 1970.
5. Сафразбекян Р. Р., Сукасян Р. С. Вопр. мед химии, 16, 6, 623—629, 1970.
6. Сафразбекян Р. Р., Арзанунц Э. М. Лабор. дело, 4, 226—227, 1977.
7. Glowinski J., Axelrod J. Pharmacol. Rev., 18, 1, 775—785, 1966.
8. Hataris A. E., Lovell R. A., Freedman D. X. Biochem. Pharmacol., 22, 17, 2200—2202, 1973.
9. Horn A. S., Snyder S. H. J. Pharm. Exp. Ther., 180, 3, 523—530, 1972.
10. Jones D. H. J. Chem. Soc. (c), 1642, 1969.
11. Kier L. B. J. Pharm. Pharmac., 21, 2, 93—96, 1959.
12. Leitz F. H. J. Pharmac. Exp. Ther., 173, 1, 152—157, 1970.
13. Rodgers J. R., Horn A. S., Kennard O. J. Pharm. Pharmac., 27, 11, 859—860, 1975.
14. Roth J. A., Gillis C. N. Biochem. Pharmacol., 23, 18, 2537—2545, 1974.
15. Schildkaut J. J., Schanberg M., Breese G. R., Kopin I. J. Biochem. Pharmacol., 18, 8, 1971—1978, 1969.
16. Schneider W. C. J. Biol. Chem., 176, 259—266, 1948.
17. Steinberg M. I., Smith C. B. J. Pharmacol. Exp. Ther., 173, 1, 176—192, 1970.

КОРТИКОСТЕРОИДНЫЕ ГОРМОНЫ И ВЗАИМООТНОШЕНИЯ МЕЖДУ АКТИВНОСТЬЮ ГЕКСОКИНАЗЫ И СОДЕРЖАНИЕМ МАГНИЯ И МАРГАНЦА В ПЕЧЕНИ

Г. Л. ПОЛОНСКАЯ, С. П. ВЛАСЕНКО

Приводятся результаты изучения изменения ферментативной активности гексокиназы в зависимости от содержания магния и марганца в печени крыс при различном гормональном статусе. Делается вывод об опосредующем значении концентрации магния в регулирующем влиянии глюкокортикоидов на активность печеночной гексокиназы.

В настоящее время проблеме адаптивного изменения активности ферментов уделяют большое внимание. Изменение активности ферментов в организме зависит от множества факторов, среди которых основную роль играют гормоны коры надпочечников. Их участие в адаптивном изменении активности подробно изучено на примере ферментов, катализирующих начальные пути распада триптофана и тирозина. Кортикостероиды регулируют активность и других ферментов переаминирования [5, 6]. Установлено тормозящее действие глюкокортикоидов на активность гексокиназы — одного из ключевых ферментов углеводного обмена, при посредстве которого глюкоза вовлекается в энергетический обмен [2, 3, 7, 11]. Однако механизм действия кортикостероидных гормонов на активность этого фермента полностью не выяснен. Не освещена, в частности, роль «кофакторной индукции» гексокиназы ионами магния и марганца в среде [4] как возможных факторов изменения ее активности под влиянием глюкокортикоидов.

Перед нами стояла задача выяснить степень корреляции между ферментативной активностью гексокиназы и содержанием магния и марганца в среде при различных состояниях надпочечных желез.

Материал и методика. Исследования проводились на беспородных белых крысах-самцах. Объектом исследования служила печень, являющаяся органом-мишенью для кортикостероидов и одновременно физиологическим депо для многих микроэлементов, влияющих на активность ферментных систем.

Состояние гиперкортицизма достигалось путем таких воздействий, как облучение животных в сублетальной дозе (375 р) и нанесение термической травмы (ожог III-а степени на спино-боковом участке площадью 10—12% поверхности тела). Наблюдения велись спустя 1, 7 и 14 суток после воздействий.

Дефицит кортикостероидных гормонов в организме достигался путем одномоментной двусторонней адреналэктомии, которая производилась под эфирным наркозом. Ад-

репалэктомизированные животные содержались на обычном рационе с заменой питьевой воды 0,1%-ным раствором NaCl и брались в опыт на 6-й день после операции.

Активность гексокиназы определялась методом Лонга [10] и выражалась в убыли глюкозы (мкл на 1 мг сухого веса ткани в 1 час). Содержание магния и марганца определялось методом эмиссионного спектрального анализа в модификации Айдиняна [1]. Полученные результаты выражены в условных единицах: отношение значения плотности почернения линии исследуемого элемента к значению линии внутреннего стандарта (0,1 мл 0,1%-го раствора ванадия на 4 г свежей ткани).

Данные статистически обработаны и выведен коэффициент корреляции между изменением активности гексокиназы и содержанием магния и марганца в печени.

Результаты и обсуждение. Как видно из табл. 1, удаление надпочечных желез вызывает значительное снижение активности гексокиназы печени с одновременным повышением концентрации магния в ней. Заместительное введение гидрокортизона восстанавливает исходный уровень как ферментативной активности, так и магния в печеночной ткани.

Таблица 1
Активность гексокиназы и содержание Mg и Mn в печени в условиях адrenaлэктомии и заместительного введения глюкокортикоидов

Условия эксперимента	Гексокиназа, мкл/час	Магний, усл. ед.	Марганец, усл. ед.
Контроль	22±2,8	0,63±0,05	0,54±0,06
Адrenaлэктомия	14±1,5*	0,86±0,03*	0,46±0,05
Адrenaлэктомия+гидрокортизон	24±3,1	0,59±0,05	0,62±0,06

* Здесь и в последующих таблицах — достоверные различия.

Наблюдаемое при воздействии стрессорных факторов (ионизирующее облучение и термический ожог) усиление функциональной активности надпочечных желез, сопровождающееся повышением выброса в кровь кортикостероидных гормонов [8, 9], обуславливает значительные изменения в ферментативной активности печеночной гексокиназы и содержании изучаемых элементов во все сроки исследования (табл. 2).

Таблица 2
Активность гексокиназы и содержание Mg и Mn в печени при стрессорных воздействиях на организм

Условия эксперимента	Сутки	Гексокиназа, мкл/час	Магний, усл. ед.	Марганец, усл. ед.
Контроль		22±2,8	0,72±0,06	0,61±0,05
Облучение	1	12±1,4*	0,4±0,04*	0,36±0,02*
	7	18±1,0	0,99±0,05	0,30±0,02*
	14	14±1,7*	0,54±0,05*	0,37±0,03
Ожог	1	17±1,7*	0,52±0,04*	0,72±0,03
	7	20±2,7	0,94±0,07*	0,46±0,04*
	14	25±2,8	0,88±0,06	0,49±0,03

Через сутки после облучения печень животных обедняется магнием и марганцем и параллельно снижается активность фермента. Спустя 7 су-

ток содержание марганца по-прежнему остается низким, а содержание магния и гексокиназная активность повышаются. Еще через неделю наблюдается повторное снижение как активности фермента, так и концентрации магния в печени животных с острой лучевой болезнью.

У животных, подвергнутых термической травме, активность гексокиназы снижается только в первый срок исследования (1-е сутки). Содержание магния снижается через одни, а марганца через семь суток после поражения. Концентрация магния в печени на 7-е сутки оказывается достоверно повышенной.

Таким образом, при действии на организм таких стресс-факторов, как облучение и термическая травма, обнаруживается определенный параллелизм между изменением гексокиназной активности печени и содержанием в ней указанных элементов, в основном магния. Направленность сдвигов этих показателей меняется в соответствии с изменением гормонального (кортикостероидного) фона на различных стадиях заболевания.

Установить степень опосредованного участия адреналовых желез в действии поражающих факторов на активность гексокиназы и изменение концентрации магния и марганца в печени представляется возможным при действии на организм животного теми же агентами с предварительным удалением надпочечников (табл. 3). Отсутствие адрена-

Таблица 3

Активность гексокиназы и содержание Mg и Mn в печени адреналэктомированных крыс при стрессорных воздействиях

Условия эксперимента	Сутки	Гексокиназа, мкл/час	Магний, усл. ед.	Марганец, усл. ед.
Контроль		22±2,8	0,65±0,05	0,54±0,06
Адреналэктомия + облучение	1	13±2,9*	0,37±0,04*	0,21±0,01*
	7	19±2,8	0,34±0,05*	0,20±0,02*
	14	34±3,0*	0,23±0,03*	0,09±0,009*
Адреналэктомия + ожог	1	20±2,5	0,46±0,06*	0,30±0,04*
	7	15±2,4*	0,23±0,03*	0,28±0,04*
	14	23±3,2	0,52±0,03	0,45±0,06

ловых желез изменяет направленность сдвигов в содержании микроэлементов и активности фермента в печени при действии теми же факторами. Воздействие ионизирующей радиации на организм в условиях гипокортицизма влечет за собой прогрессивно нарастающее обеднение печеночной ткани изучаемыми элементами. Активность печеночной гексокиназы при этом оказывается сниженной лишь в первые сутки, в дальнейшем она повышается и к 14-м суткам достоверно превышает контрольный уровень.

Термическая травма приводит у адреналэктомированных животных к менее выраженным и более кратковременным изменениям в печени как в отношении содержания минеральных элементов, так и активности фермента. Как и при облучении, концентрация магния и марганца сни-

жается, но лишь в первые семь суток. Гексокиназная активность изменяется только на 7-е сутки, она также снижается.

Анализируя полученные данные в аспекте взаимосвязи изучаемых параметров, можно заключить, что предварительное удаление надпочечников нарушает отмеченную нами ранее однонаправленность и одновременно сдвигов в активности гексокиназы и концентрации магния в печени при облучении и нанесении ожоговой травмы.

Сказанное позволяет сделать вывод об опосредующей роли кортикостероидов в действии указанных факторов на ферментативную активность и содержание микроэлементов, в частности магния и марганца, в печени крыс. Для подтверждения данного предположения были проведены опыты с заместительным введением глюкокортикоидов адrenaлэктомированным животным, подвергнутым облучению и ожоговой травме (табл. 4). Полученные данные свидетельствуют о том, что

Таблица 4

Активность гексокиназы и содержание Mg и Mn в печени адrenaлэктомированных крыс при стрессорных воздействиях на фоне заместительного введения глюкокортикоидов

Условия эксперимента	Сутки	Гексокиназа, мкл/час	Магний, усл. ед.	Марганец усл. ед.
Контроль		22±2,8	0,78±0,08	0,62±0,05
Адреналэктомия + облучение + гидрокортизон	1	15±1,4*	0,56±0,06	0,47±0,04*
	7	21±2,8	0,65±0,05	0,46±0,04*
	14	16±1,0*	0,52±0,05*	0,45±0,06*
Адреналэктомия + ожог + гидрокортизон	1	16±1,9*	0,51±0,04*	0,36±0,04*
	7	15±1,9*	0,68±0,07	0,34±0,05*
	14	28±2,9	0,76±0,07	0,39±0,04*

оно оказывает нормализующее влияние лишь на содержание магния после 7 инъекций, но в целом значительно уменьшает степень снижения элементов по сравнению с группой животных, не получавших гормона. Активность фермента в этих условиях оказывается сниженной не только через сутки после поражения, как в предыдущей группе подопытных животных, но и через 14 суток.

Введение гормона адrenaлэктомированным животным с ожоговой травмой вызывает снижение гексокиназной активности после одной и семи инъекций препарата. Содержание микроэлементов при этом также снижается: магния — через сутки после травмы, а марганца — во все сроки исследования.

Таким образом, заместительное введение гидрокортизона, если и не оказывает полностью нормализующего влияния на активность гексокиназы и концентрацию магния и марганца в печени облученных животных и животных с ожоговой травмой, то восстанавливает коррелятивные взаимоотношения между ферментом и магнием.

Для математического подтверждения выявленной зависимости на основании экспериментальных данных был выведен коэффициент корреляции (r) и установлена его достоверность (p) (табл. 5).

Кoeffициент корреляции активности гексокиназы
с содержанием Mg и Mn в печени

Условия эксперимента	Магний		Марганец	
	r	P	r	P
Облучение	+0,8	<0,02	0,5	>0,05
Ожог	+0,7	<0,02	-0,8	<0,02
Адреналэктомия + облучение	+0,2	>0,10	+0,1	>0,10
Адреналэктомия + ожог	+0,5	>0,05	+1,0	<0,02
Адреналэктомия + облучение + гидрокортизон	+0,9	<0,01	-0,2	>0,10
Адреналэктомия + ожог + гидрокортизон	+0,8	<0,02	+0,8	<0,02

Как видно из таблицы, между активностью гексокиназы и содержанием магния в печени при всех условиях ведения эксперимента имеется прямая коррелятивная связь. Состояние гипокортицизма, вызванное хирургическим вмешательством, уже само по себе изменяет характер связи между изучаемыми показателями (снижение активности фермента происходит при повышении содержания магния), а в условиях воздействия поражающими факторами ослабляет ее, т. е. коэффициент корреляции, оставаясь положительным, не носит достоверного характера. При заместительном введении глюкокортикоидов адреналэктомизированным животным прямая коррелятивная связь между активностью фермента и содержанием магния в печени вновь становится достоверной. В отношении марганца при используемых нами воздействиях на организм не удалось выявить четкой корреляционной связи с активностью гексокиназы: она носила и прямой и обратный характер и в большинстве случаев оказалась недостоверной.

Следовательно, характер и выраженность коррелятивной связи между активностью гексокиназы и содержанием магния в печени при стрессорных воздействиях на организм в значительной мере зависит от гормонального статуса, в частности от гормонов коры надпочечников.

Таким образом, в регулирующем влиянии глюкокортикоидов на активность печеночной гексокиназы уровень магния в среде имеет определенное значение.

Сектор радиобиологии МЗ АрмССР

Поступило 24. XI. 1978 г.

ԼՅԱՐԴԻ ԷՆՔՐՈԱԿԻՆԱԶՍՅԻ ԱԿՏԻՎՈՒԹՅԱՆ ԵՎ ՄԱԳՆԵԶԻՈՒՄԻ
ՈՒ ՄԱՆԳԱՆԻ ՔԱՆԱԿՆԵՐԻ ՓՈԽՆՄԱՐԱՅԵՐՈՒԹՅԱՆ ՄԵՋ
ԿՈՐՏԻԿՈՍՏԵՐՈՒԹՅԱՆ ԶՈՐՄՈՆԵՐԻ ՄԱՍՆԱԿՑՈՒԹՅԱՆ ՄԱՍԻՆ

Գ. Լ. ՊՈՂՈՍԿԱՅԱ, Ս. Պ. ՎԼԱՍՅԱՆ

Ուսումնասիրվել է առնետների լյարդում տարբեր հորմոնալ ստատուսի ժամանակ (հիպո-հիպերկորտիցիզմ) հեքսոկինազայի ֆերմենտատիվ ակտիվության փոփոխությունը՝ կախված մագնեզիումի և մանգանի քանակից:

Ստացված տվյալների հիման վրա կարելի է եզրակացնել լյարդի հերթո-
կինազայի ակտիվության վրա գլյուկոկորտիկոիդ հորմոնների կարգավորիչ
ազդեցության ժամանակ մանգանի կոնցենտրացիայի միջնորդ նշանակության
մասին:

ON PARTICIPATION OF CORTICOSTEROID HORMONES IN RELATIONSHIPS BETWEEN HEXOKYNASE ACTIVITY AND MAGNESIUM AND MANGANESE CONTENT IN LIVER

C. L. POLONSKAJA, S. P. VLASENKO

The changes of fermentative activity of hexokynase depending on rat liver magnesium and manganese content under various hormone status have been investigated.

On the basis of data obtained a conclusion has been made that magnesium concentration has an intermediary property in the glucocorticosteroid regulating effect on liver hexokynase activity.

Л И Т Е Р А Т У Р А

1. Айдинян Р. А. Тр. Бюро судебно-медицинской экспертизы МЗ АрмССР, 59, Ереван, 1961.
2. Ильин В. С., Шаныгина К. И. *Вопр. мед. химии*, 6, 3, 291—300, 1960.
3. Ильин В. С., Степанова Н. Г. *Вопр. мед. химии*, 10, 5, 576—583, 1964.
4. Ленинджер А. *Биохимия*, М., 1974.
5. Поликарпова Л. И. 3-й Всесоюзный биохим. съезд, реф. научн. сообщ., 2, 92, Рига, 1974.
6. Протасова Т. Л. *Современные вопр. эндокр.*, 3, 110—117, 1969.
7. Черкасова Л. С., Кукулянская М. Р., Миронова Т. М. Роль надпочечников в биохимических сдвигах при действии малых доз ионизирующей радиации. Минск, 1969.
8. Шурыгин Р. Я., Беляев В. Е. *Военно-мед. журн.*, 3, 38—42, 1965.
9. David G., Faradi L., Tanka D. *Radiobiol., Radiother.*, 3, 1, 91, 1962.
10. Long C. N. H. *Recent Progr. Hormones Res.*, 7, 75, 1952.
11. Kerppola W. *Endocrinology*, 67, 2, 252, 1960.

РАСПАД РАСТВОРИМЫХ БЕЛКОВ МОЗГА КРЫС
 ПОД ДЕЙСТВИЕМ КАТЕПСИНА D

А. П. ОГАНИСЯН, Т. Н. АКОЛЯН, Г. А. ГЕВОРКЯН, А. А. ГАЛОЯН

Методом двойной изотопной метки исследована относительная скорость распада нативных растворимых белков мозга крыс *in vivo* и *in vitro* под действием катеписина D, выделенного из мозга крыс. Изучена также зависимость величины скорости распада этих белков от их молекулярного веса.

Экспериментальные данные последних лет свидетельствуют о том, что распад белков является одним из важных факторов в регуляции их уровня в организме. Значение этих данных особенно велико в отношении белков центральной нервной системы, принимающих участие в кодировании памяти, регуляции разных физиологических активностей и т. д.

Метод двойных изотопных меток, предложенный Арисом и др. [3], позволяет отличать растворимые белки, имеющие различные скорости распада *in vivo* и *in vitro* под действием некоторых эндопептидаз [4, 5]. Нужно отметить, что закономерности, выявленные в отношении белков печени, осажденных с помощью трихлоруксусной кислоты, не распространяются на нативные белки.

В данной работе мы приводим результаты измерения относительной скорости распада нативных растворимых белков мозга *in vivo* и *in vitro* под действием катеписина D, выделенного из мозга крыс.

Материал и методика. В работе использовали сефадекс G-100, сефарозу 4В (Pharmacia, Швеция), L-[4,5-³H]-лейцин с удельной активностью 1,0 Кюри/мМоль и L-[U-¹⁴C]-лейцин с удельной активностью 348 мКюри/мМоль (Amersham, Англия), протозол (New England Nuclear, США), 2,5-дифенилоксазол (PPO) и (1,4-бис 2(4-метил-5-фенилоксазол)ил) бензол) (диметил PPOP) (Sigma, США). Катеписин D выделили из мозга по методу Аколяни др. [1].

Белки определялись методом Лоури, в котором в качестве стандарта использовали сывороточный альбумин быка [6]. Величины абсорбции элюированных проб из колонок регистрировались фотометром Увикорд II (ZKB, Швеция). При калибровке колонок использовали метод, описанный Эндрюсом [2]. Колонки (2,5×60 см и 3×100 см соответственно) с сефарозой 4В и сефадексом G-100 уравнивали в 0,025 М фосфатном буфере (рН 7,6). Калибровку колонок с сефарозой 4В производили ферритином, каталазой, альдолазой и овальбумином, а колонку с сефадексом G-100 — альбумином, овальбумином, химотрипсиногеном А и миоглобином.

Скорость распада белков измеряли методом двойной изотопной метки [3], определяя ее по включению меченого лейцина в белковую молекулу. Подопытным крысам массой 150 г внутрибрюшинно вводили 100 мКюри L-[U-¹⁴C]-лейцина, а через 10 дней—500 мКюри L-[4,5-³H]-лейцина. Контрольным крысам одновременно вводили

ли 250 мкКюри L-[4,5-³H]-лейцина и 50 мкКюри L-[U-¹⁴C]-лейцина. Животных декалцитировали через 4 час. после введения L-[4,5-³H]-лейцина, извлекали мозг и гомогенизировали в гомогенизаторе типа Поттера. Гомогенизацию проводили в двух объемах 0,025 М фосфатного буфера (рН 7,6), содержащего 0,3 М сахарозу.

После центрифугирования гомогенатов при 20 000 x g (40 мин) и 100 000 x g (60 мин) полученный белковый супернатант подвергали фракционированию на сефарозе 4B. По 0,5 мл элюированных фракций переносили в счетные кюветы, проводили солубилизацию протозолом, добавляли жидкий сцинтиллятор на основе толуола, содержащий 4 г/л РРО и 0,1 г/л диметил РОРОР, и определяли уровень ³H и ¹⁴C в жидкостном сцинтилляционном спектрометре SL-30 (Intertechnique, Франция) по программе, предусматривающей одновременный счет обоих изотопов. Эффективность по ¹⁴C составляла 60%, по ³H—40%. Полученные данные выражали в распадах/минуту и вычисляли отношение ³H/¹⁴C.

Вторую серию опытов проводили на крысах, получивших внутривенно 750 мкКюри L-[4,5-³H]-лейцина и декалцитированных через 4 часа. После проведения описанной выше обработки ткани мозга растворимые белковые фракции наносили на колонку с G-50 сефадексом для освобождения от свободного лейцина. Полученные фракции соединяли и подвергали протеолитическому расщеплению катепсином Д при 37°. Инкубационная проба объемом 0,4 мл содержала цитратный буфер 0,05 М конечной концентрации с различными рН (2, 2,5, 2,9, 3,5, 4,3, 5,3, 5,8), 0,16 мг меченого субстрата (³H—11 500 имп./мл на мл) и 20 γ катепсина Д. После 2-часовой инкубации содержание проб осаждали 0,1 мл 30%-ной ТХУ и брали пробы для определения радиоактивности [³H]-лейцина. В качестве контроля служили пробы без осаждения ТХУ.

Для белкового элюата, пропущенного через колонку с сефадексом G-50, получили кинетику скорости распада нативных белков мозга крыс, меченых [³H]-лейцином, при значениях рН 3,2 и 5,3 под действием катепсина Д. Общая инкубационная проба составляла 3 мл: 1,6 мг меченого субстрата, цитратный буфер 0,05 М конечной концентрации (рН 3,2 и 5,3), 0,2 мг катепсина Д. Через определенное время образцы осаждали 0,1 мл 30%-ной ТХУ. Контролем служили пробы без осаждения ТХУ.

Для выявления закономерности между скоростью распада и размерами молекул белков последние, меченые [³H]-лейцином, фракционировали на колонке с сефадексом G-100. Полученные элюаты соединяли в 6 фракций, отличающихся по молекулярным весам. Все фракции подвергали расщеплению катепсином Д. Общая инкубационная проба составляла 3 мл: 0,8 мг субстрата, цитратный буфер 0,05 М конечной концентрации (рН 2,9), 0,1 мг катепсина Д. Концентрации белков во всех фракциях были равны 0,4 мг/мл, ³H—1530; 1357; 875; 1225; 735; 450 имп./мл на мл в соответствующих фракциях. Пробы осаждали 0,1 мл 30%-ной ТХУ. Величину радиоактивности в пробах определяли в канале, предусматривающем счет ³H с эффективностью 58% и выражали ее в распадах/минуту.

Результаты и обсуждение. Метод двойных изотопных меток [3] применяют для определения относительной скорости распада белковых молекул. При этом две изотопные формы одной и той же аминокислоты используются для фиксирования двух точек, описывающих распад белков. Белки, имеющие большую величину отношения первая метка/вторая метка, характеризуются как распадающиеся с большой скоростью *in vivo*. В наших экспериментах животные получили вторую метку спустя 10 дней после инъекции первой метки, в то время как в опытах большинства исследователей экспозиция первой метки составляла 4 дня. Однако установлено, что оптимальное время экспозиции первой метки равно 8—14 дней [5].

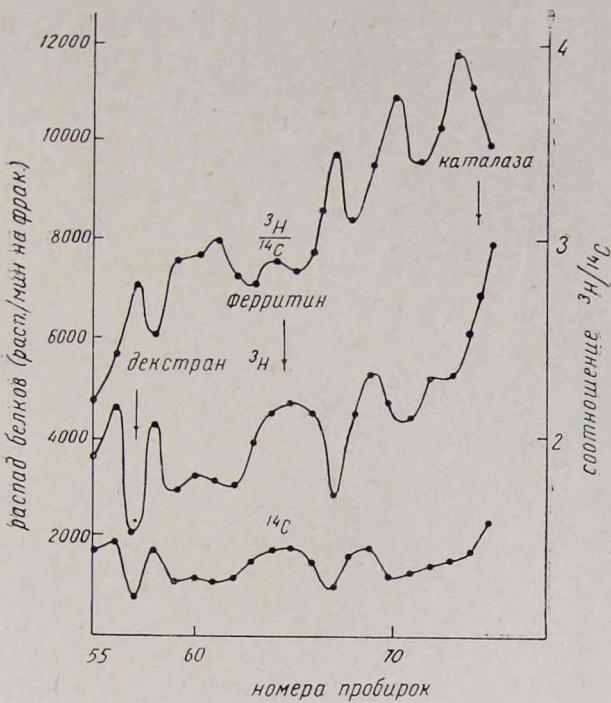


Рис. 1. Фракционирование растворимых белковых фракций мозга крыс на колонке с сефарозой 4В. Свободный объем колонки—70 мл. Метка $[^3\text{H}]$ —лейцина, введенная спустя 10 дней после введения $[^{14}\text{C}]$ —лейцина.

Как видно из рис. 1, все фракции растворимых белков мозга крыс, полученные на колонке с сефарозой 4В, характеризуются включением обеих меток. Соотношение меток белков мозга контрольных крыс, полу-

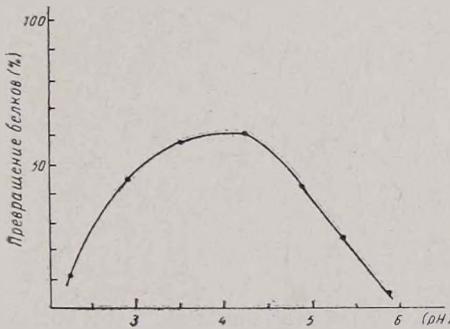


Рис. 2. рН-зависимость гидролиза белков мозга крыс, содержащих $[^3\text{H}]$ —лейцин, под действием катепсина Д.

чивших обе метки одновременно, находится в интервале 1.5—2, в то время как белки мозга опытных крыс (рис. 1) имеют большее соотноше-

ние, 2—4. Известно, что колонка с сефарозой 4В разделяет белки, имеющие молекулярный вес от 2×10^5 до 2×10^7 . В этой области молекулярных весов белки с относительно маленьким молекулярным весом имеют большую скорость распада.

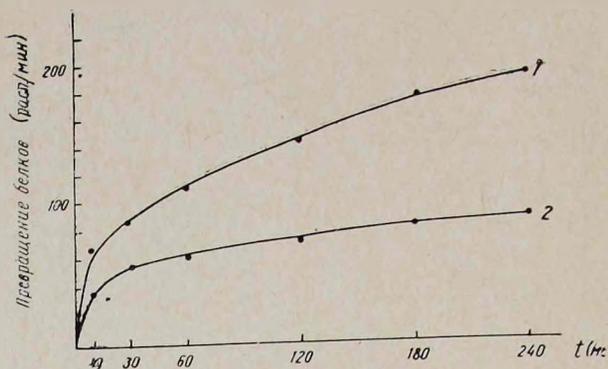


Рис. 3. Кинетика скорости распада нативных белков мозга крыс, меченных $[^3\text{H}]$ —лейцином, при рН 3,2 и 5,3 под действием катепсина Д. 1—кривая скорости распада при рН 3,2, 2—при рН 5,3

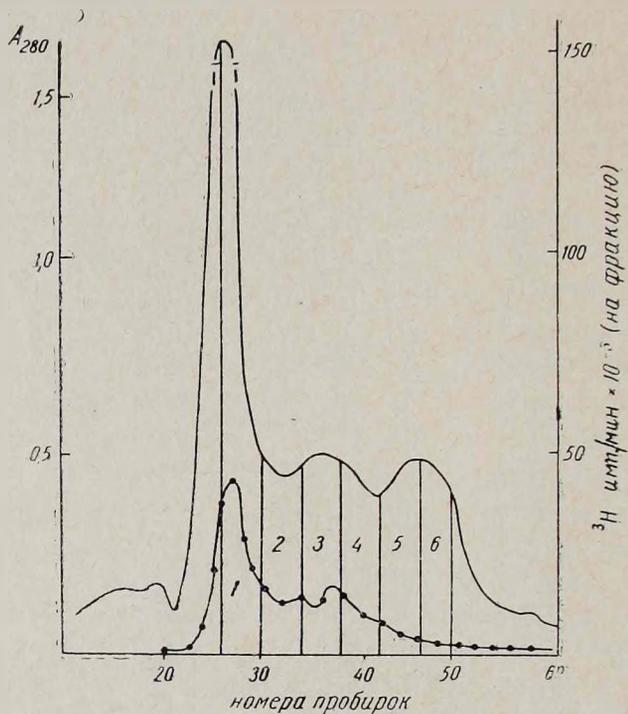


Рис. 4. Фракционирование растворимых белков мозга крыс на колонке с сефадексом G-100. Фракции — по 3 мл.

В настоящее время считают, что одним из главных протеолитических ферментов, принимающих участие в распаде внутриклеточных белков, является катепсин Д. С целью изучения действия этого фермента на растворимые белки мозга мы выделяли его из мозга крыс по методу, описанному ранее [1]. Полученные препараты фермента добавляли к растворимым белкам мозга и следили за выходом радиоактивности в супернатанте после осаждения ТХУ. Как видно, катепсин Д расщепляет белки мозга в интервале рН 2,5—5,5, т. е. с широким рН оптимумом (рис. 2).

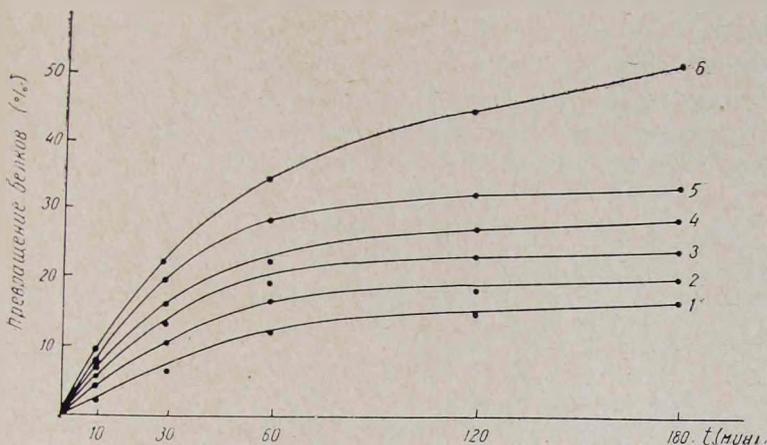


Рис. 5. Зависимость скорости распада белков мозга крыс от молекулярного веса белков под действием катепсина Д. Кривые 1—6 соответствуют фракциям белков с убывающими молекулярными весами.

Выход радиоактивности в течение 4 час. составляет около 50% при рН 3,2 и 20% при рН 5,3 (рис. 3). Существует много работ, где показана закономерность между скоростью расщепления белков и их молекулярным весом. Чтобы установить наличие такой закономерности, мы подвергали фракционированию растворимые белки мозга крыс, получивших только [³H]-лейцин. Собирали фракции с различными молекулярными весами, как показано на рис. 4, которые подвергали сгущению с помощью сефадекса G-100, а затем — протеолизу катепсином Д. Как видно из рис. 5, белки, имеющие маленький молекулярный вес, распадаются с большей скоростью, чем белки с большим молекулярным весом, что и является основным результатом данной работы.

Институт биохимии АН АрмССР

Поступило 13. IV. 1979 г.

**ԱՌՆԵՏԻ ՈՒՂԵՂԻ ԼՈՒԾԵԼԻ ՍՊԻՏԱԿՈՒՅՆՆԵՐԻ ՔԱՅՔԱՅՈՒՄԸ
ԿԱՏԵՊՍԻՆ Ը-Ի ԱԶԴԵՑՈՒԹՅԱՆ ՆԵՐՔՈ**

Ա. Բ. ՀՈՂՀԱՆՆԵՍՅԱՆ, Թ. Ն. ՀԱԿՈՅԱՆ, Գ. Ա. ԴԵՎՈՐԳՅԱՆ, Ա. Ա. ԳԱՈՅԱՆ

Հետազոտվել է առնետի ուղեղի նատիվ լուծելի սպիտակուցների քայքայման հարաբերական արագությունը կատեպսին Ը-ի ազդեցության ներքո in vivo և in vitro (կատեպսին Ը-ն անջատված է առնետի ուղեղից):

Հետազոտվել է նաև այդ սպիտակուցների քայքայման արագության կախվածությունը նրանց մոլեկուլյար կշռից:

DISSOCIATION OF THE RAT BRAIN SOLUBLE PROTEINS UNDER THE ACTION OF CATEPSIN D IN VIVO AND IN VITRO

A. I. HOVHANNISSYAN, T. N. AKOPYAN, G. A. GEVORKYAN, A. A. GALOYAN

The relative rate of native soluble rat proteins dissociation in vivo and in vitro under the action of Cathepsin D isolated from rat brain has been investigated by the method of 2 isotop labelling.

The dependence of dissociation rate value of those proteins upon their molecular weight has also been investigated.

Л И Т Е Р А Т У Р А

1. Akopyan T. N., Arutunyan A. A., Lajtha A. and Galoyan A. A. *Neurochem. Research*, 3, 89, 1978.
2. Andrews P. *Biochem. J.*, 96, 595, 1965.
3. Arias J. M., Doyle D., Schimke R. T. *J. Biol. Chem.*, 244, 3303, 1969.
4. Dean T. *Eur. J. Biochem.*, 58, 9, 1975.
5. Fred Dice J., Dehlinger P. J., Schimke R. T. *J. Biol. Chem.*, 248, 4220, 1973.
6. Lowry O. H., Rosebrough N. J., Farr A. L. and Randall R. J. *J. Biol. Chem.*, 193, 265, 1951.

ВЛИЯНИЕ ИОНОВ МАРГАНЦА НА АКТИВНОСТЬ АРГИНАЗЫ МОЗГА В ХОДЕ АККЛИМАЦИИ КРЫС К ХОЛОДУ

Л. С. АРУТЮНЯН

Исследовалось влияние ионов марганца на активность аргиназы мозга акклимируемых к холоду крыс при рН 9,5 и 7,5 и температуре инкубации 37° и 15°. Полученные результаты указывают на то, что чувствительность фермента к активатору в процессе адаптации к холоду в неоптимальных условиях инкубации возрастает.

При акклимации крыс к низкой температуре окружающей среды происходит резкое снижение активности аргиназы мозга [8]. Причины изменения активности фермента при адаптации к холоду неизвестны. Косвенным доказательством того, что в условиях адаптации к холоду изменяются свойства аргиназы мозга, является обнаруженное нами ранее изменение чувствительности фермента к температуре инкубации и рН среды [7]. В связи с этим значительный интерес представляет исследование при действии холода процесса регуляции фермента ионами марганца, являющимся наиболее эффективным активатором аргиназы в печени и других органах [18, 19]. Аргиназа печени является металлоферментом. Для ее функционирования необходимо присутствие ионов марганца или других двухвалентных ионов (Co²⁺; Fe²⁺, Ni²⁺) [16, 17]. Полагают, что ионы марганца играют важную роль в активировании фермента печени *in vivo*, так как обнаружено значительное снижение его активности у животных с недостаточностью марганца [11, 12]. Установлено, что ионы марганца имеют важное значение для поддержания тетрамерной структуры печеночного фермента [12, 13]. Рядом исследователей показано, что они активируют также аргиназу мозга [3, 9, 20], однако механизм этого явления не изучен.

Известно, что активирование аргиназы ионами металлов процесс обратимый и зависит от многих факторов: природы металла, его концентрации, времени действия, рН среды и температуры инкубации [15]. Исходя из этого, представлялось целесообразным изучить активирование под влиянием ионов марганца аргиназы мозговой ткани в ходе акклимации животных к холоду в условиях различных рН и температуры инкубации. Исследовали активность аргиназы при рН 9,5 и 7,5, так как, по данным ряда авторов, в мозге, в отличие от печени, она имеет два оптимума рН [9, 14]. Для определения температурной чувствительности фермента, наряду с 37°, его активность определяли также при температуре 15°, являющейся нижней критической температурой, при которой продолжается деятельность мозга [2].

Материал и методика. Объектом исследования служили белые крысы-самцы массой 120—150 г. Животных помещали в холодовую камеру при температуре 2—4°, во время пребывания на холоде ректальная температура у них не изменялась. Контролем служили крысы, содержащиеся в условиях вивария при температуре 20—22°. Активность аргиназы определяли на 3-и, 15-е, 30-е, 45-е сутки пребывания животных на холоде. Об активности фермента судили по количеству образовавшейся мочевины, которую определяли уреазным методом. Аммиак определяли фенолгипохлоритным методом [10] после микродиффузии в течение 20 час. при комнатной температуре [21]. При определении активности аргиназы пробы, содержащие 50 мг ткани мозга в 0,5 мл, предварительно инкубировали в течение 15 мин при 37° или 15° с 5 мкмоль $MnCl_2$, затем добавляли 20 мкмоль L-аргинина HCl и инкубировали еще 30 мин при той же температуре. В качестве буферов использовали 1/15 М калий-фосфатный буфер, pH 7,5, и 0,05 М глициновый буфер, pH 9,5. Активность аргиназы выражали в мкмоль мочевины/г ткани/30 мин.

Результаты и обсуждение. На рис. 1 представлены данные об изменении активности аргиназы мозга при акклимации крыс к холоду, измеренной в оптимальных условиях (pH 9,5, температура инкубации 37°).

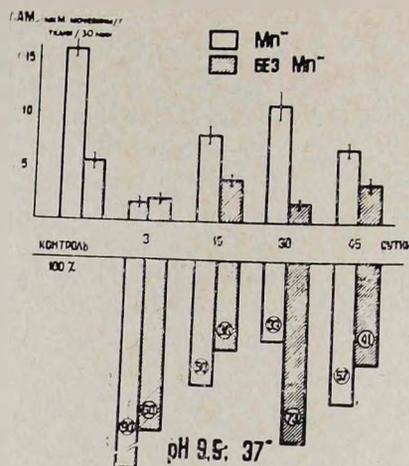


Рис. 1. Влияние ионов марганца на активность аргиназы мозга в ходе акклимации крыс к холоду

Характерно, что способность фермента активироваться ионами марганца снижается почти на всех этапах акклимации. Особенно четко это выражено на 3-и сутки пребывания крыс в холодной камере, когда активность аргиназы в присутствии ионов марганца снижается на 90%, а без них на 68% по сравнению с контролем. В абсолютных величинах активность фермента в этих условиях примерно одинакова (таблица). Таким образом, на 3-и сутки, когда холод оказывает наиболее выраженное стрессорное действие [5], аргиназа мозга теряет способность активироваться ионами марганца, что, вероятно, связано с глубокой перестройкой в ее структуре. В ходе дальнейшей акклимации к холоду явления стресса постепенно сменяются адаптивными изменениями. На 15-е сутки активность фермента повышается по сравнению с 3-ми сутками, но она ниже на 50% в присутствии ионов марганца и на 36% в отсутствие активатора по сравнению с контролем. На 30-е сутки активирующее влияние марганца наиболее выражено, однако и в этом случае активность аргиназы ниже, чем в контроле на 33% при наличии ионов мар-

Таблица

Действие ионов Mn^{++} на активность аргиназы мозга крыс (μM мочевины/г ткани 30 мин) в зависимости от pH среды и температуры инкубации в ходе акклимации к холоду ($n=10$)

Температура инкубации		37°					15°				
Величина pH среды	Наличие активатора	Продолжительность акклимации, сутки									
		контроль	3	15	30	45	контроль	3	15	30	45
9,5	Mn^{++}	16,24±0,39	1,55±0,17 <0,001	8,25±0,36 <0,001	10,95±0,63 <0,001	7,03±0,23 <0,001	5,07±0,20	0,82±0,08 <0,001	2,40±0,11 <0,001	4,25±0,31 <0,001	3,88±0,14 <0,001
	без Mn^{++}	5,77±0,51	1,78±0,12 <0,001	3,59±0,18 <0,001	1,46±0,10 <0,001	3,27±0,13 <0,001	3,16±0,36	1,86±0,28 <0,001	2,25±0,17 <0,002	2,18±0,11 <0,002	1,80±0,23 <0,001
	f_a	2,9	0,9	2,3	7,5	2,2	1,61	0,44	1,1	2,0	2,2
7,5	Mn^{++}	9,16±0,50	1,35±0,22 <0,001	3,18±0,33 <0,001	7,60±0,38 <0,001	7,01±0,36 <0,001	3,99±0,08	1,63±0,07 <0,001	1,43±0,08 <0,001	4,44±0,18 >0,020	3,63±0,34 >0,1
	без Mn^{++}	4,24±0,24	1,16±0,14 <0,001	1,65±0,20 <0,001	2,78±0,13 <0,001	1,59±0,23 <0,001	2,89±0,22	0,44±0,01 <0,001	0,95±0,10 <0,001	1,44±0,03 <0,001	1,05±0,11 <0,001
	f_a	2,2	1,2	1,9	2,7	4,4	1,4	3,7	1,5	3,1	3,4

ганца и на 73% в его отсутствие. К 45-м суткам холодового воздействия активизирующее действие марганца проявляется в меньшей степени, чем на 30-е сутки, а активность аргиназы снижается по сравнению с контролем на 57 и 41% соответственно в присутствии и в отсутствие активатора. Примечательно, что во все сроки акклимации изучаемый показатель снижается более заметно при наличии ионов марганца в среде. Это свидетельствует о том, что в отсутствие активатора фермент оказывается более устойчивым к действию холода.

Вычислив отношение активностей аргиназы мозга в присутствии и в отсутствие ионов марганца, мы получили фактор активирования (i_a) и проследили за его изменением в процессе акклимации к холоду в условиях различных рН и температуры инкубации.

Как видно из данных, представленных в таблице, на 3-и сутки пребывания животных на холоде ионы марганца при температуре инкубации 37° не оказывают активизирующего влияния на аргиназу мозга (рН 9,5), но несколько активизируют ее при рН 7,5. На 15-е сутки фермент больше активизируется при рН 9,5 ($i_a = 2,3$), чем при рН 7,5 ($i_a = 1,9$). Четко выражена зависимость степени активирования фермента от величины рН среды на 30-е сутки жизни животных в холодовой камере: когда для аргиназы мозга при рН 9,5 $i_a = 7,5$, а при рН 7,5 $i_a = 2,7$, т. е. фермент в это время становится более чувствительным к изменению рН среды, чем в контроле, и проявляет максимальную способность к взаимодействию с активатором при оптимальной величине рН. К моменту адаптации (45-е сутки) способность аргиназы мозга активироваться ионами марганца снижается при рН 9,5 ($i_a = 2,2$) и возрастает в 2 раза при рН 7,5 по сравнению с контролем.

Полученные данные согласуются с результатами исследований Бендецкого, который показал, что при слабощелочном рН активирование аргиназы ионами марганца проявляется более наглядно, чем при рН 7,4 [1]. Это можно объяснить тем, что нейтральная и слабощелочная аргиназы менее прочно связаны с ионами марганца, чем основные, ввиду более легкой диссоциации марганца из комплекса $Mn \cdot$ — фермент, что подтверждается данными об изоэлектрическом фокусировании препарата фермента печени [18, 19].

Следующая серия экспериментов преследовала цель выяснить, как влияет снижение температуры инкубации фермента при рН 9,5 и 7,5 на процесс активирования аргиназы мозга ионами марганца в ходе акклимации животных к холоду.

Как свидетельствуют данные, представленные в таблице, снижение температуры инкубации до 15° подавляет активность аргиназы при рН 9,5 у контрольных животных и во все сроки акклимации как при наличии активатора, так и в его отсутствие. На всех этапах холодового воздействия, кроме 45-х суток, отмечается снижение способности фермента взаимодействовать с активатором, о чем легко судить по изменению величины i_a . В контроле эта величина для аргиназы мозга при 37° равна 2,8, а при 15° — 1,6, т. е. у контрольных животных способность к ак-

тивированию фермента ионами марганца при 15° снижается почти в 2 раза. На 3-и сутки активность аргиназы, измеренная в отсутствие ионов марганца, более чем в 2 раза выше, чем в присутствии их, т. е. ионы марганца выступают в роли своеобразного ингибитора, и $f_a = 0,44$ при 15° , а при $37^{\circ} = 0,9$. По-видимому, в этот критический для жизни животного период снижение температуры инкубации приводит к таким структурным изменениям в молекуле фермента, что оптимальными для него становятся условия без ионов марганца. На 15-е сутки холодого воздействия при температуре инкубации 15° наличие ионов марганца не оказывает влияния на активность фермента, и $f_a = 1,1$, тогда как при 37° его способность активироваться несколько возрастает по сравнению с контролем и $f_a = 2,3$. На 30-е сутки способность аргиназы мозга к активированию ионами марганца при 15° возрастает значительно меньше, чем при 37° , и f_a оказывается соответственно равным 2,0 и 7,5. На 45-е сутки акклимации к холоду обнаружена одинаковая зависимость активирования ионами марганца аргиназы мозга при 37° и 15° , в обоих случаях $f_a = 2,2$.

Из данных, приведенных в таблице, явствует, что при снижении величины рН до 7,5 при температуре инкубации 15° , так же как и при рН 9,5, наблюдается уменьшение активности аргиназы мозга у контрольных животных как при наличии, так и в отсутствие ионов марганца по сравнению с инкубацией при 37° . Однако в ходе акклимации к холоду

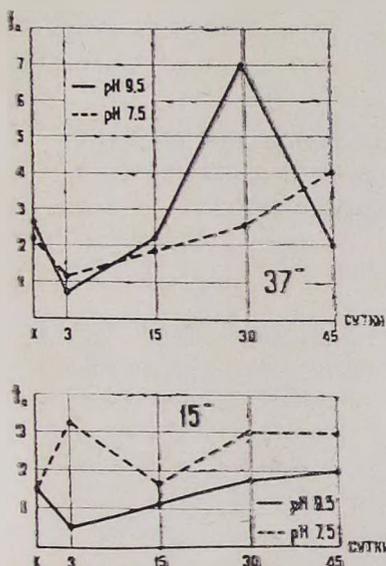


Рис. 2. Динамика активирования аргиназы мозга ионами марганца при рН 9,5 и рН 7,5 и температуре инкубации 37° и 15° в ходе акклимации крысы к холоду.

при этом отмечается иная по сравнению с рН 9,5 зависимость активирования фермента ионами марганца: снижение температуры инкубации не приводит к уменьшению активирующего влияния ионов марганца, напротив, в отдельные сроки оно даже резко возрастает, что особенно выражено на 3-и сутки, когда $f_a = 3,7$ по сравнению с $f_a = 1,2$ при 37° . Примечательно также, что на всех этапах акклимации к холоду фер-

мент проявляет более высокую чувствительность к действию активатора при рН 7,5, чем при рН 9,5, что наглядно видно из данных, представленных на рис. 2. При температуре инкубации 37° зависимость активирования аргиназы мозга ионами марганца от величины рН носит фазный характер: в основном величины I_a при рН 9,5 выше, чем при рН 7,5, тогда как у адаптированных к холоду животных (45 суток) выявляется противоположная зависимость (рис. 2).

Приведенные данные свидетельствуют о том, что эффективность работы аргиназы мозга в ходе акклимации животных к холоду в неоптимальных для нее условиях (рН 7,5, температура инкубации 15°) возрастает.

По литературным данным [6], адаптация к низкой температуре на уровне ферментов проявляется в повышении их нестабильности. Биологический смысл этого явления огромен, так как факторы среды, воздействующие на организм и опосредованно — на его ферментативные системы, быстро меняются во времени. Нестабильность является свойством, благодаря которому ферменты могут эффективно реагировать на изменение этих факторов. Не исключено, что изменение стабильности аргиназы, осуществляющееся путем ослабления ее связи с активатором (ионами марганца), является биологически целесообразным механизмом регуляции активности фермента при акклимации животных к холоду.

Институт биохимии АН АрмССР

Поступило 27. XI. 1978 г.

ՄԱՆԳԱՆԻ ԻՈՆՆԵՐԻ ԱԶԳԵՑՈՒԹՅՈՒՆԸ ԱՌՆՆՏԵՆԵՐԻ ՈՒՂԵՂԻ
ԱՐԳԻՆԱԶՍՅՈՒՆԻ ԱԿՏԻՎՈՒԹՅԱՆ ՎՐԱ ՑՐՏԻ ԿԿԱՏՄԱՄԲ
ՎԱՐԺԵՑՄԱՆ ՊՐՈՑԵՍԻ ԸՆԹԱՅՔՈՒՄ

Լ. Ս. ՀԱՐՈՒԹՅՈՒՆՅԱՆ

Ուսումնասիրվել է մանգանի իոնների ազդեցությունը ցրտի նկատմամբ կլիմայավարժեցված առնետների ուղեղի արգինազայի ակտիվության վրա՝ 9,5 և 7,5 pH-ի, ինչպես նաև 37° ու 15° ինկուբացիայի պայմաններում: Հաստատվել է, որ 37°-ի և 9,5 pH-ի դեպքում ֆերմենտի մանգանի իոնների կողմից խթանման ունակությունը նվազում է առնետների ցրտի նկատմամբ կլիմայավարժեցման պրոցեսի գրեթե բոլոր էտապներում: pH-ի և ինկուբացիայի ճերմաստիճանի (pH 7,5, 15°) իջեցման դեպքում նկատվում է մանգանի իոնների խթանող ազդեցության ուժեղացում ցրտի նկատմամբ վարժեցված կենդանիների ուղեղի արգինազայի ակտիվության վրա: Ստացված տվյալները ցույց են տալիս, որ ֆերմենտի զգայունությունը ակտիվատորի ճանդեպ ինկուբացիայի ոչ օպտիմալ պայմաններում բարձրանում է:

THE EFFECT OF MANGANESE IONS ON RAT BRAIN ARGINASE ACTIVITY DURING ACCLIMATION TO COLD

L. S. HARUTUNJAN

The effect of manganese ions on brain arginase activity of rats being acclimated to cold has been investigated at pH 9,5 and 7,5 and incubation temperature 37° and 15°. It has been established that at 37° and pH 9,5 activating effect of manganese decreases during all the periods of rat acclimation to cold. The decrease of temperature and pH correspondingly to 15° and 7,5 has resulted in the enhancement of activating effect of manganese ions.

The data obtained have shown that sensitivity of arginase to activator increases in nonoptimal conditions of incubation.

Л И Т Е Р А Т У Р А

1. Бендецкий К. М. Биохимия, 30, 853, 1965.
2. Гершенович Э. С., Векслер Я. И., Атабегова Н. Г., Шугалей В. С. Сб. Проблемы гибернации и искусственной гипотермии, 52, Л., 1966.
3. Давтян М. А., Бунятыян Г. Х. Биохимия, 32, 2, 412, 1970.
4. Давтян М. А., Акопян Б. А., Карапогосян А. П., Торчян Р. О. Биолог. ж. Армении, 27, 2, 59, 1974.
5. Кириллов О. И. Клеточные механизмы стресса, 74. Владивосток, 1973.
6. Максимов В. И. Успехи совр. биол., 76, 1 (4), 21, 1973.
7. Шугалей В. С., Козина Л. С., Крицкая А. А. Сб. Теоретические и практические проблемы действия низких температур на организм, 231, Л., 1975.
8. Шугалей В. С., Козина Л. С. Физиол. журн. СССР, 63, 8, 1199, 1977.
9. Фан Ем Автореф. канд. дисс., Ростов-Дон, 1972.
10. Brown R., Duda L. Arch. Biochem. Biophys., 66, 301, 1957.
11. Boyer P. D., Shaw J. H., Phillips P. H. J. Biol. Chem., 143, 417, 1972.
12. Carvajal N., Martinez J., Fernan der M. Biochem. Biophys. Acta, 481, 177, 1977.
13. Carvajal N., Veneras A., Gestreicher G., Plaza M. Biochem. Biophys. Acta, 250, 437, 1971.
14. Gasiorowska I., Porewska Z., Mochnacka I., Jachimowicz I. Acta Biochim. Polon., 17, 19, 1970.
15. Greenberg D. M., Mohamed M. S. Arch. Biochem. Biophys., 8, 365, 1945.
16. Greenberg D. M. The Enzymes, 4, 257, Acad. Press, N. Y., 1946.
17. Hellerman L., Perkins M. E. J. Biol. Chem., 112, 175, 1935.
18. Hirsch-Kolb J. P., Kolb H. J., Greenberg D. M. Compar. Biochem. Physiol., 37, 345, 1970.
19. Hirsch-Kolb J. P., Kolb H. J., Greenberg D. M. J. Biol. Chem., 246, 2, 395, 1971.
20. Porewska Z. Enzyme, 15, 198, 1973.
21. Seligson D., Seligson H. J. Lab. Clin. Med., 38, 324, 1951.
22. Shils M. E., Mc Collum J. Nutr., 26, 1, 1943.

КОМПЕНСАТОРНО-ПРИСПОСОБИТЕЛЬНЫЕ ПРОЦЕССЫ В ЖЕЛУДКЕ ПОСЛЕ ТОТАЛЬНОЙ РЕЗЕКЦИИ ПАТОЛОГИЧЕСКИ ИЗМЕНЕННОЙ ПОДЖЕЛУДОЧНОЙ ЖЕЛЕЗЫ

А. Н. ПОМЕЛЬЦОВ, В. Н. ШАТАЛОВ

В хроническом эксперименте на собаках показано, что нарушение внешнесекреторной деятельности поджелудочной железы приводит к значительному компенсаторному изменению функции желудка. Кроме количественных сдвигов, выявлены и качественные изменения в характере желудочной секреции — появление амилотического фактора, способного к расщеплению углеводов при резко кислом значении рН и гораздо более глубокий, чем в норме, гидролиз белка, протекающий с образованием значительных количеств свободных аминокислот. Тотальная резекция патологически измененной поджелудочной железы не приводит не только к быстрой гибели животных, как это происходит при резекции нормальной железы, но даже не вызывает угнетения компенсаторных реакций со стороны желудочной секреции.

В настоящее время не вызывает сомнения тот факт, что нарушение функций различных органов системы пищеварения приводит к развитию компенсаторных процессов со стороны оставшихся частей желудочно-кишечного тракта. Подавляющее большинство исследователей придерживается того мнения, что в основе компенсации функций, нарушенных ходом того или иного патологического процесса, лежит функциональная взаимозаменяемость различных частей пищеварительной системы, т. е. компенсация по типу замещения [6, 8, 11, 12]. При этом, как свидетельствуют результаты многочисленных исследований, развитие компенсаторного процесса может протекать до какого-то предела, после чего начинают проявляться явления декомпенсации [9, 10].

Проведенное Благовидовым и Саркисовым исследование [4] показало, что поджелудочная железа обладает невысокой регенераторной способностью. В то же время частичная, вплоть до субтотальной, резекция этого органа не вызывает сколько-нибудь выраженных, в смысле конечных результатов, нарушений пищеварительных процессов. Исследование компенсаторных возможностей системы пищеварения при экспериментальных формах внешнесекреторной недостаточности поджелудочной железы, проведенное в нашей лаборатории [1—5], показало, что ведущая роль в развитии этих процессов принадлежит желудку, а не тонкой кишке. Кроме того, как об этом свидетельствуют ранее полученные данные, развитие компенсаторных реакций со стороны желудка при нарушении внешнесекреторной деятельности поджелудочной железы

(усиление желудочного сокоотделения, протеолитической активности желудочного сока, возрастание дебита соляной кислоты, смещение рН желудочного сока в щелочную сторону, появление амилолитического фактора, способного осуществлять гидролиз крахмала при резко кислом значении рН реакции, что совершенно не характерно для желудочного сока интактных животных, появление способности желудочного сока к гораздо более глубокому расщеплению белка, протекающему с образованием значительных количеств свободных аминокислот и т. д.) носит стабильный и длительный характер, не претерпевая сколько-нибудь выраженных изменений на протяжении всего времени наблюдения на подопытных животных (в наших опытах 5 лет и более). Другими словами, нам ни разу не удалось выявить малейших проявлений декомпенсации.

Целью настоящего исследования было изучение в хронических опытах на собаках принципиальной возможности тотальной резекции как нормальной, так и измененной предшествующим патологическим процессом поджелудочной железы.

Материал и методика. Намп были проведены две серии опытов на собаках: в первой серии удалялась нормальная поджелудочная железа, а во второй — она удалялась спустя 10—14 месяцев после оперативного нарушения ее внешнесекреторной деятельности (перевязка протоков и экспериментальный рефлюкс-панкреатит).

Определялись следующие показатели секреторной деятельности желудка: количество желудочного сока (в мл), кислотность его (в титр. ед.), протеолитическая активность (в усл. ед.) по методике Коротыко [7]. Кроме того, определялись амилолитическая активность желудочного сока по методике Смит-Рой-Уголева и степень гидролиза белка на аминокислотном анализаторе «Бекман М-121».

Результаты и обсуждение. На рис. 1 представлены результаты исследования динамики основных показателей желудочной секреции в различные сроки после перевязки протоков поджелудочной железы. Видно, что нарушение внешнесекреторной деятельности поджелудочной железы приводит к выраженному усилению желудочного сокоотделения, повышению протеолитической активности желудочного сока. Значительно снижается как общая, так и свободная кислотность желудочного сока, но за счет резкого повышения желудочного сокоотделения дебит соляной кислоты не только не снижается, а даже несколько возрастает.

Удаление нормальной, не измененной патологическим процессом, поджелудочной железы приводит к быстрой гибели животных даже на фоне заместительной инсулинотерапии. Как правило, животные не доживают до 4—5 дня после операции.

Тотальная резекция поджелудочной железы, осуществленная через 10—14 месяцев после перевязки протоков поджелудочной железы или операции экспериментального рефлюкс-панкреатита, не приводит к гибели животных. Заместительную терапию инсулином мы применяли только в первые 5—7 дней после тотальной резекции поджелудочной железы. Животные получали инсулин из расчета 1 ед. на кг веса. Уро-

вень сахара крови не претерпевал значительных изменений и ни у одного подопытного животного не превышал нормальных показателей, составляя в среднем $98,7 \pm 5,3$ мг% натощак (в норме $92,5 \pm 4,8$ мг%).

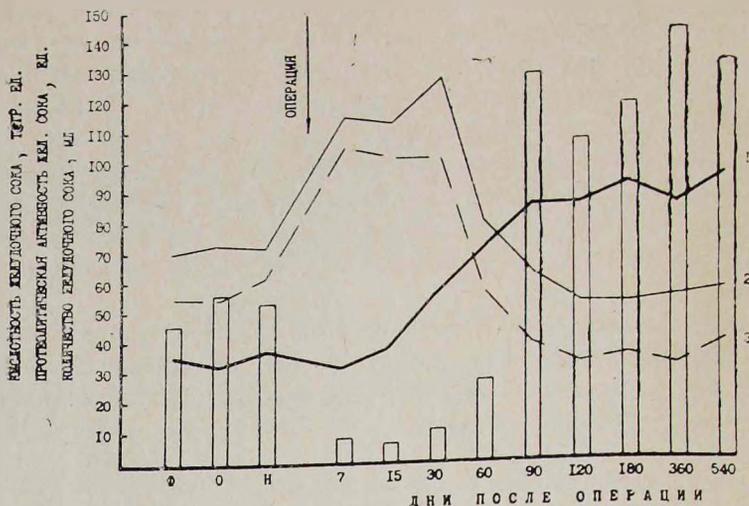


Рис. 1. Динамика основных показателей секреторной деятельности желудка у собаки с фистулой желудка по Басову в различные сроки после перевязки протоков поджелудочной железы.

□—количество желудочного сока, 1—протеолитическая активность, 2—общая кислотность, 3—свободная кислотность.

Тотальная резекция патологически измененной поджелудочной железы не приводит к значительным изменениям основных показателей секреторной деятельности желудка. Из рис. 2 видно, что лишь в ранние сроки после операции отмечается незначительное снижение желудочного сокоотделения, протеолитической активности желудочного сока и его кислотности (как общей, так и свободной). Уже к концу 1-го месяца после операции показатели секреторной деятельности желудка у данной собаки устанавливаются на том уровне, на котором они держались в отдаленные сроки после перевязки протоков поджелудочной железы (рис. 1). Как видно из рис. 2, основные показатели секреторной деятельности желудка после тотальной резекции патологически измененной поджелудочной железы продолжают держаться на дооперационном уровне все последующее время исследования. Следует отметить также, что наряду с практически неизменными показателями секреторной деятельности желудка нами не было обнаружено существенных изменений и в других исследованных нами показателях. В частности, выключение внешнесекреторной деятельности поджелудочной железы сопровождается значительной интенсификацией процессов гидролиза различных белковых субстратов. Тотальная резекция патологически измененной поджелудочной железы не приводит к снижению интенсивности этих процессов (табл. 1).

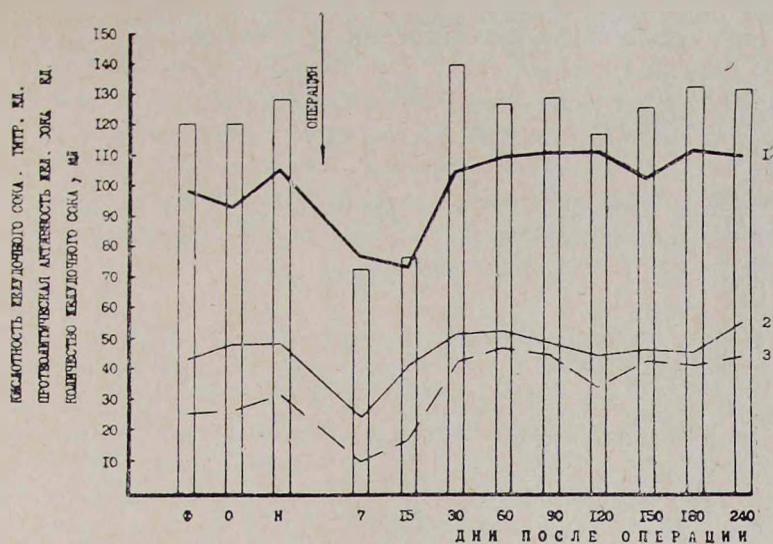


Рис. 2. Динамика основных показателей секреторной деятельности желудка у той же собаки в различные сроки после тотальной резекции поджелудочной железы. Условные обозначения те же, что на рис. 1.

Таблица 1

Количество свободных аминокислот (мг%), образующихся при действии желудочного сока на белковые субстраты в различные сроки после перевязки протоков поджелудочной железы и последующей тотальной резекции патологически измененной поджелудочной железы

Субстрат	Контроль	Перевязка протоков поджелудочной железы		Тотальная резекция поджелудочной железы		
		дни после операции				
		60	120	15	60	300
Казеин	0,126±0,026	0,125±0,033	5,277±0,973	5,256±0,961	5,281±0,955	5,275±0,972
Бычий альбумин	0,237±0,029	0,236±0,037	6,934±0,837	6,938±0,852	6,922±0,846	6,984±0,854
Яичный альбумин	0,397±0,068	0,419±0,106	7,028±0,121	7,211±0,202	7,121±0,124	7,167±0,125

Из табл. 1 видно, что начиная с конца 4-го месяца после перевязки протоков поджелудочной железы происходит резкое увеличение количества свободных аминокислот, образующихся при действии желудочного сока подопытных собак на различные белковые субстраты. Достигнув столь высокого, по сравнению с исходным, уровня, эти показатели не претерпевают в дальнейшем сколько-нибудь выраженных изменений. Тотальная резекция патологически измененной поджелудочной железы не приводит к снижению степени гидролиза белка желудочным соком подопытных животных на протяжении всего времени исследования.

Одним из наиболее важных, на наш взгляд, обстоятельств, является то, что нарушение внешнесекреторной деятельности поджелудочной железы приводит к появлению и длительному существованию в составе желудочного сока подопытных собак амилолитического фактора, способного осуществлять гидролиз углеводов в резко кислой среде (рН 1.5). В табл. 2 приведены результаты исследования амилолитической активности желудочного сока в различные сроки после перевязки протоков поджелудочной железы и после тотальной резекции ее, произведенной спустя 10—14 месяцев.

Таблица 2

Динамика амилолитической активности желудочного сока (усл. ед.) в различные сроки после перевязки протоков поджелудочной железы и последующей тотальной резекции патологически измененной железы

Контроль	Перевязка протоков поджелудочной железы			Тотальная резекция патологически измененной поджелудочной железы	
	дни после операции				
	30	90	180	30	120
0	19,3±1,6	55,6±3,4	221,4±17,1	212,2±19,8	235,7±19,6

Видно, что появление амилолитической активности в желудочном соке подопытных собак отмечается спустя 6 месяцев после перевязки панкреатических протоков и держится на высоком уровне все последующее время исследования. Тотальная резекция патологически измененной поджелудочной железы не влияет на этот показатель.

Аналогичные результаты были получены нами и при исследовании изучаемых показателей у животных, перенесших операцию экспериментального рефлюкс-панкреатита. Разница заключалась только в том, что стабилизация основных показателей секреторной деятельности желудка у животных с экспериментальным рефлюкс-панкреатитом наступала в более отдаленные сроки, чем у животных с перевязкой протоков поджелудочной железы, что связано, очевидно, с характером развития патологического процесса в самой железе. Тотальная резекция поджелудочной железы у животных с экспериментальным рефлюкс-панкреатитом, так же как и у собак с перевязкой панкреатических протоков, не приводит к сколько-нибудь заметному изменению в характере секреторной деятельности желудка.

Полученные данные свидетельствуют о значительной роли желудка в развитии компенсаторных процессов в системе пищеварения, проявляющихся после нарушения внешнесекреторной деятельности поджелудочной железы. Эти процессы настолько выражены и закрепились, что даже тотальная резекция патологически измененной поджелудочной железы не приводит к их срыву и развитию процессов декомпенсации. Следует отметить также, что компенсаторные реакции со стороны же-

лудка посят не только количественный, специфический, характер, но и явно выраженный качественный.

Четвертое главное управление при Минздраве
СССР (ЦНИЛ), Москва

Поступило 21.III 1979 г.

ԿՈՄՊԵՆՍԱՏՈՐԱԶԱԲԱՐՈՂԱԿԱՆ ՊՐՈՑԵՍՆԵՐԸ ԱՍՏՄՈՔՍՈՒՄ
ԱԽՏԱԲԱՆՈՐԵՆ ՓՈՓՈԽՎԱԾ ԵՆԹԱՍՏՄՈՔՍԱԳԵՂՁԻ
ԼՐԻՎ ՀԵՌԱՑՈՒՄԻՑ ՀԵՏՈ

Ա. Ն. ՊՈՄԵԼՏՈՎ, Վ. Ն. ՇԱՏԱԼՈՎ

Շների վրա կատարված խրոնիկական փորձերով ցույց է տրվում, որ ենթաստամբազեղձի արտաբին սեկրետոր գործունեության խանգարումը հանգեցնում է ստամոքսի ֆունկցիայի նշանակալից կոմպենսատոր փոփոխության: Ենթաստամոքսային սեկրետիայի բնույթի մեջ բացի քանակական տեղաշարժերից հայտնաբերվել են նաև որակական փոփոխություններ՝ ամիլոլիտիկ ֆակտորի գոյացումը, որն ընդունակ է ածխաջրատների ճեղքել pH-ի խիստ թթվայնության ժամանակ և բավական խորը, քան սպիտակուցային հիդրոլիզի նորմայի դեպքում, որն ընթանում է ազատ ամինաթթուների զգալի քանակների գոյացումով:

Ախտաբանորեն փոփոխված ենթաստամբազեղձի լրիվ հեռացումը ոչ միայն չի հանգեցնում կենդանիների արագ մահվան, ինչպես այդ տեղի է ունենում նորմալ զեղձի հեռացման ժամանակ, այլ անգամ չի առաջացնում կոմպենսատոր ռեակցիաների ճնշում ստամոքսային սեկրետիայի կողմից:

COMPENSATORY-ADAPTIVE PROCESSES IN STOMACH AFTER
TOTAL RESECTION AS A RESULT OF PANCREAS
PATHOLOGICAL CHANGES

A. N. POMELTSOV, V. N. SHATALOV

By an experiment on dogs it has been shown that the disturbance of pancreas external secretory function results in considerable changes of stomach functions. Gastric juice secretion, proteolytic activity and hydro-chloric debit increase. Besides some quantitative and qualitative changes take place.

ЛИТЕРАТУРА

1. Благовидов Д. Ф. Докт. дисс., М., 1972.
2. Благовидов Д. Ф., Помельцов А. Н., Шаталов В. Н. БЭБиМ, 11, 19—21, 1972.
3. Благовидов Д. Ф., Помельцов А. Н., Шаталов В. Н. БЭБиМ, 11, 12—16, 1973.
4. Благовидов Д. Ф., Саркисов Д. С. Компенсаторные процессы после резекции поджелудочной железы. М., 1976.
5. Благовидов Д. Ф., Смагин В. Г., Помельцов А. Н., Шаталов В. Н. Пищеварительные ферменты. Ужгород, 21—23, 1976.

6. Зуфаров К. А., Байбеков И. М., Хаджиметов А. А. Компенсаторно-приспособительные процессы в кишечнике. М., 1974.
7. Коротко Г. Ф. Выделение ферментов железами желудка. Ташкент, 1971.
8. Матросова Е. М., Кыргин А. А., Самохвалов В. И. Системные регуляции деятельности желудка. Л., 1974.
9. Меззон Ф. Э. Пластическое обеспечение функций организма. М., 1967.
10. Струков А. И. Компенсаторно-приспособительные процессы. Куйбышев. 8—15, 1961.
11. Уголев А. М. Физиология и патология пристеночного пищеварения. Л., 1967.
12. Филиппович С. И., Амиров Н. Ш., Волкова Т. В. и др. Компенсаторные процессы в пищеварительной системе после резекции желудка и тонкого кишечника. М., 1963.

К МЕХАНИЗМУ ПРОВЕДЕНИЯ НЕРВНОГО ИМПУЛЬСА

Д. Б. ДАВИДЯН

Исследуются структурная организация биологических мембран и механизм потенциала действия. Рассматриваются и обосновываются гипотезы об остове двойного электрического слоя. Показано, что потенциал действия вызывается нарушениями двух двойных электрических слоев мембраны.

В биологических мембранах обнаруживаются заряженные слои, природа которых не ясна. Предполагается, что в мембране может быть один, два и более конденсаторов, или двойных электрических слоев (ДС) [12, 16, 20].

Общеизвестно, что ДС весьма общее явление там, где напряженность электрического поля отличается от нуля, из-за неравенства поверхностных энергий, диэлектрических проницаемостей, работы выхода электрона, сродства к электрону, электрохимических потенциалов и т. д.

Модель ДС Гельмгольца — твердая поверхность, обладающая потенциалопределяющим зарядом, притягивает из раствора ионы противоположного знака, и образуется конденсатор без зазора или с зазором в виде сольватированных молекул растворителя в один или два слоя. Парадокс электронейтральность — избыточный поверхностный заряд разрешен введением представлений о диффузном слое противоионов.

Образование потенциалопределяющего заряда представляется следующим образом: захватом электронов из твердого тела, существованием несимметричного относительно ядер электронного облака на поверхности, выходом электронного газа на поверхность, «выпучиванием» ψ -функции на поверхности, смещением электронов или ионов, существованием адсорбционных центров, отдачей ионами своих зарядов поверхности, отдачей твердой поверхностью зарядов в раствор, адсорбцией потенциалопределяющих ионов из раствора с образованием ДС или его перезарядкой, адсорбцией нейтральных молекул и их ионизацией, диссоциацией поверхностных ионогенных групп, изменением рН раствора, обменной адсорбцией, различием в скоростях адсорбции анионов и катионов, различием в коэффициентах адсорбции, предпочтительной адсорбцией и т. д.

По другим представлениям, ДС образуется иначе: из-за различного расстояния катионов и анионов от поверхности, предпочтительной уни-

полярной ориентацией диполей, сдвигом униполярно ориентированных диполей, на границе диполей и ионов с наружным и внутренним расположением диполей, в стыке полярных веществ с разной полярностью, донорно-акцепторным взаимодействием, химическим взаимодействием, водородными связями, в стыке поверхность-ПАВ, диполями на поверхности коллоидной мицеллы, в р-п-переходе, на границе раздела металл — расплав, вероятно, в дислокациях, при трении и т. д. ДС не возникает между неполярными веществами и веществами одинаковой полярности.

Такое большое разнообразие представлений о ДС, их противоречивость связаны с тем, что оставался невыясненным вопрос об атомно-молекулярном остове ДС.

Была выдвинута гипотеза об остове ДС — молекулярной композиции (МК) в виде молекул разной полярности, между которыми находится нейтральная прослойка неполярных газов, идентифицируемая с неполярными адсорбатами Ленгмюра [5]. В настоящей работе продолжается исследование строения МК и ДС и их функций.

На рис. 1 представлена модель отрицательно заряженных МК⁻ и ДС⁻. Слева от границы раздела находятся потенциалопределяющие

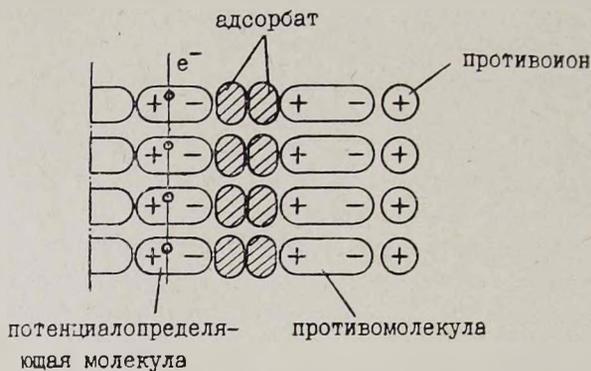


Рис. 1. Модель МК⁻ и ДС⁻.

молекулы с большим эффективным зарядом на полюсах диполя. Справа противомолекулы, имеющие меньший эффективный заряд. Эффективный заряд диполя не определяется экспериментально и только находится расчетным путем для некоторых молекул. Молекулы притягиваются через нейтральную прослойку, и в зазоре остается электростатическое поле, величина и форма которого будут определять способность субъединиц МК объединяться в пространственную структуру. Связь диполей из-за зазора ослабляется, и вот почему, вероятно, электростатическая адгезия, предполагающая разрушение в плоскости, разграничивающей два вида полярных молекул, оказывается слабой, хотя расчет показывает, что ее прочность должна быть намного выше. Не исключается возможность разрушения и по диффузному слою. Диполь-дипольное взаимодействие (мало изученная область) между потенциалопределяющими

ми молекулами слева от границы раздела фаз снижает напряженность поля у их стыка и поэтому плотно упакованные молекулы, с одинаковым направлением полюсов, не отталкиваются друг от друга. Обычно принято считать, что хотя бы частичная униполярная ориентация диполей в электретах и является причиной возникновения электростатического поля, причем гетерозаряд вызван тем, что поверхностные диполи не скомпенсированы. Внутри электрета полюса диполей компенсируют друг друга и поэтому диэлектрическая проницаемость частиц ниже, чем у дисперсионной среды. Это же явление наблюдается и для связанной воды. Ее диэлектрическая проницаемость снижается до 2.

Отсутствие хотя бы косвенных экспериментальных данных затрудняет изучение внутреннего строения мицелл. Неизвестно, как образуется мицелла, каким образом компенсируются полюса потенциалопределяющих молекул в глубине ее, на какую глубину распространяется ориентация молекул, каким образом формируется катнионный слой внутри мицелл, несущих MK^+ и $ДС^+$, и т. д.

Положительно заряженные золи образуются в кислых средах, отрицательно — в щелочных, при этом положительно заряженный полюс противомолекулы для MK^- обращен в электронейтральную среду, определяющую кислотные свойства, а отрицательно заряженный полюс MK^- — в среду, определяющую основные свойства. Эта особенность может по-новому осветить вопрос о кислотно-основных свойствах растворов, на сегодняшний день не полностью определяемых современными теориями кислот и оснований. Золи статически не заряжены, и в то же время мицеллы обнаруживают заряд во внешнем электростатическом поле. Для частных случаев было обнаружено, что отдиализованные золи теряют заряды, но при этом частицы не разрушаются [11]. Диполи в частице электронейтральны. Первый же монослой ионов экранирует внутренность частицы, а поле противомолекул деформировано и выходит далеко в среду, определяя существование диффузной атмосферы (не этим ли определяется диссоциация молекул среды и катализ?). Мицелла превращается как бы в большой ион. Вероятно, этим и можно объяснить эпитаксиальное наращивание кристаллов через нейтральную прослойку в 100 \AA и более в экспериментах Дистлера [7]. В соответствии с мономолекулярной адсорбцией Ленгмюра принято считать, что ориентационная роль подложки определяется только поверхностными атомами и ограничивается несколькими ангстремами, но экспериментально обнаружено большее дальное действие молекулярных полей [6]. Результаты Дистлера не были воспроизведены [21], но при этом поверхность подложки тщательно очищалась, что приводило к ликвидации MK и соответствующих дальнедействующих электростатических полей, т. е. эксперименты Дистлера указывают не только на вероятность существования эстафетного механизма взаимодействия диполей, но и на деформацию молекулярных полей в MK . Вид подготовки поверхности имеет важное значение при изучении поверхностных явлений. Германий с точечным контактом терял выпрямляющие свойства, когда с поверхно-

сти убирались окислы и газовые пленки. Таким образом, необходимо всегда учитывать предысторию поверхности.

Катионы на поверхности МК⁻ кроме взаимодействия с полями противомолекул компенсируются свободными электронами в области незамкнутых положительных полюсов диполей потенциалопределяющих молекул.

P-n-переход образуется дырками в полупроводнике p-типа и электронами в полупроводнике n-типа, при этом в физике полупроводников, так же как и в катализе, не известна структурная организация границы перехода [3]. Выпрямление переменного тока происходит за счет перетекания электронов из полупроводника n-типа в полупроводник p-типа при прямом включении внешнего напряжения. По представлениям Фуллера [19], полупроводник p-типа является аналогом кислоты, а полупроводник n-типа—основания. Усановичем [17] кислотность и основность связывались с полярными свойствами молекул, поэтому важное значение приобретает расположение диполя в молекуле, так как часть ее может выступать как буфер, препятствующий соответствующему полюсу проявлять хотя бы адсорбционные свойства. Более сильная твердая кислота адсорбирует менее сильное основание, и поверхность оказывается менее сильной кислотой. То же самое наблюдается и в отношении оснований. Понятие кислота и основание относительны, так как даже серная кислота может выступать как основание. Для многих веществ изменение среды может изменить ориентацию диполей, все будет тогда зависеть от подбора соответствующих противомолекул.

Кислотные и основные свойства проявляются полюсом потенциалопределяющей молекулы. Внутренняя среда с полностью замкнутыми полюсами будет нейтральной. Внешняя среда будет кислой или основной. ДС вносит изменения в распределение полей в центре МК. Для МК⁻ электроны уменьшают полярность потенциалопределяющей молекулы, а катионы снаружи в диффузном слое, наоборот, повышают полярность противомолекулы. Для МК⁺ будет наблюдаться обратная картина. Это приводит к тому, что емкость МК⁻, а также концентрация ионов, необходимых для коагуляции, будет ниже, чем для МК⁺. Этот вывод соответствует экспериментальным данным.

Неэлектропроводные вещества в состоянии МК⁻ в совокупности со средой формируют электропроводящий слой, проявляющийся в биологических мембранах, в капиллярах [8], при электризации [13], в полупроводниковых выпрямителях и т. д. Проводящий слой, вероятно, является местом пребывания сольватированных [1] и делокализованных [10] электронов, которые выбиваются оттуда, например, при люминесценции, биолюминесценции, ультразвуковом свечении [9], при экзoeлектронной эмиссии [22], механоэмиссии [14], в эффектах Рессела [25], Кирлиан [10] и т. д. Сравнимая с металлами плотность распределенных электронов в биологических системах [2] способствовала обоснованию предположения о существовании молекулярного скелета с пространственно организованной биологической плазмой (электроны, протоны,

ионы) [10], совместно обладающих, как предполагалось, полупроводниковыми свойствами [15]. Концентрация полупроводимости не получила развития из-за того, что р-п-переход не укладывался в липид-протеиновое строение биологических систем, но, исходя из вышесказанного, переход липид-протеин обладает различными энергетическими уровнями, а понятие зоны проводимости, кроме квантовомеханического значения (уровень энергии электрона), охватывает еще и пространственную область существования электрона в МК⁻ (рис. 1). Подбор соответствующих компонентов МК⁻ с высокой плотностью электронов и среды может значительно снизить сопротивление перемещению электронов вдоль МК⁻. Указывалось на возможность осуществления сверхпроводимости в мономолекулярных слоях определенных типов молекул [24]. Сверхпроводимость в тонком слое или в слоистых структурах [4] позволяет выдвинуть предположение, что микроскопическая теория сверхпроводимости может определяться МК⁻. С этим предположением согласуется существующее мнение, согласно которому сверхпроводимость вызывается поверхностным упорядочиванием в результате какого-то неизвестного взаимодействия. Кроме того, известно, что сверхпроводящий слой существует и предохраняется при нанесении на него специальных составов.

Для дифильных молекул, например, липидов, в зависимости от того, МК⁺ или МК⁻ образуется на поверхности, площадь поперечного сечения молекулы будет различной, этим, вероятно, и объясняется эффект Лабруста [18]. В переходной зоне значений рН переход МК⁻ в МК⁺ может осуществляться под воздействием механического усилия. Так как количество противоионов, а противомолекул тем более, мало, то для очень многих зольей и мономолекулярных слоев до сих пор не известны ни противомолекулы, ни противоионы, поэтому, вероятно, и был сделан вывод о том, что лиофильные головки растворяются в среде, а лиофобные выталкиваются, тогда как это связано с возникновением МК.

Для биологических мембран, включающих в себя липиды и белки, МК⁻ будет выглядеть как повторяющиеся субъединицы белковых остовов. Полярные головки липидов связаны с диполями аминокислот, и структурное соответствие их, вероятно, вызывает необходимость существования большого разнообразия липидов.

На рис. 2 изображена возбудимая мембрана, в которой двойная композиция МК⁻ содержит два ДС⁻. Околосмембранная область имеет повышенные концентрации катионов при внешней среде, более оснóвной, чем внутренняя среда мембраны. Открытые положительные полюса потенциалопределяющих молекул могут компенсироваться другими диполями. В модели мембраны Финеана положительный полюс лецитина компенсируется холестерином (не этим ли определяется исключительная роль группы ОН, выполняющей функции тупика для положительного полюса). Закрытый положительный полюс является потенциальной ямой для свободных электронов, не фиксируемых в эксперимен-

тах, но при этом клетка должна характеризоваться нестехиометрическим составом электролитов, выражающимся в дефиците анионов.

Существует предположение, что импульс с раздражающего электрода расходуется на заряд мембранного конденсатора с утечкой. Каким образом это согласуется с предложенной моделью? «Деполаризация» мембраны сопровождается восстановлением катионов ДС⁻ на раздражающем электроде (первая фаза—ток наружу [12]). Меняется среда между электродом и мембраной, и происходит как бы короткое замыкание. Электроны из области липидов, где они находились в потен-



Рис. 2. Модель электровозбудимой мембраны.

циальной яме, выходят наружу (туннельный эффект перехода), а катионы близлежащих областей на поверхности мембраны входят внутрь из-за того, что ДС⁻ нарушен (вторая фаза—ток внутрь). Диффузионное восстановление среды повышает необходимый порог возбуждения, выражающегося в определенном количестве электричества. Катионы, попав в другую среду, теряют гидратную оболочку, рекомбинируя на электронах внутреннего ДС⁻, и последний также нарушается. Этому нарушению будет содействовать положительный электрод, являющийся источником катионов. Катионы внутренней среды входят в мембрану (третья фаза—ток наружу). Из-за диффузии и воздействия полей МК⁻ среда под раздражающим электродом восстанавливается. Последовательно восстанавливаются наружный и внутренний ДС⁻. Электролиты диффундируют из внутренней среды мембраны и вновь ионизируются, а свободные электроны выталкиваются в область липидов.

Таким образом, в возбудимых мембранах имеет место локальное кратковременное изменение типа среды, сопровождающееся волной нарушения и восстановления двух ДС⁻ вдоль нервного волокна. Отсюда можно сделать вывод, что сила порогового тока зависит от расстояния катода от мембраны. Чем больше расстояние, тем выше порог (больше объем катионов, подлежащих восстановлению). Это согласуется с экспериментами на перехватах Ранвье [16].

В синапсах кратковременный перевод наружной среды в р-тип, свойствами которого обладает внутренняя структура мембраны, короткоживущими медиаторами вызывает выход электронов, и производится запуск потенциала действия, т. е. то же самое, что и при запуске потенциала действия электрическим стимулом. Это согласуется с известными предположениями, согласно которым в синапсах изменяется электростатическое поле в момент запуска спайка. Изменение концентрации электролитов или их состава может приводить как к прекращению возбуждения, так и к самогенерации из-за флуктуации концентрации электролитов, связанных, например, с метаболизмом клетки.

Лиофильные золи характеризуются отдалением диффузного слоя ДС от границы раздела МК за счет длинных цепей стабилизаторов. Адсорбция определенного типа молекул биологическими мембранами или же изменение типа среды могут блокировать нормальную деятельность клетки. Представляет большой практический интерес выяснение условий существования МК — мембран *in vivo*. Трансформация МК — в МК + может привести к существенной перестройке мембраны с потерей ею своих специфических свойств и возникновению инородного состояния как для делящихся, так и не делящихся клеток.

Вычислительный центр АН АрмССР

Поступило 7.V 1979 г.

ՆԵՐՎԱՅԻՆ ԻՄՊՈՒԼՍԻ ՀԱՂՈՐԴՄԱՆ ՄԵԽԱՆԻԶՄԻ ՄԱՍԻՆ

Դ. Բ. ԴԱՎԻԴՅԱՆ

Հետազոտվել են կենսաբանական մեմբրանի կառուցվածքային ձևավորումը և գործող պոտենցիալի մեխանիզմը: Դիտարկվել և հիմնավորվել է կրկնակի էլեկտրական շերտի հենքի մասին հիպոթեզը: Ցույց է արվում, որ գործող պոտենցիալը առաջանում է մեմբրանի երկու կրկնակի էլեկտրական շերտերի խախտումներից:

ON THE MECHANISM OF NERVE IMPULSE TRANSMISSION

D. B. DAVIDIAN

The structural organization of biological membranes and the mechanism of action potential have been studied. Hypotheses of double electrical layer frame are considered and based. It has been shown that the action potential is caused by the breach of two double electrical layers of a membrane.

Л И Т Е Р А Т У Р А

1. Бродский А. М., Царевский А. В. Республ. межвед. сб. Физика молекул. Вып. 1, Киев, 1975.
2. Блюменфельд Л. А., Калмаксон А. Е., Чен-Пей ДАН СССР, 124, 1144, 1959.
3. Волькенштейн Ф. Ф. Физико-химия поверхности полупроводников. М., 1973.

4. Гинсбург А. А. УФН, 95, 1, 91, 1968.
5. Давидян Д. Б. Арм. хим. журн., 31, 5, 1978.
6. Дерягин Б. В. Минеральное сырье, 2, 33, 1934.
7. Дистлер Г. П. Сб. Исследование в области поверхностных сил. М., 1967.
8. Жуков И. И., Фридрихсберг Д. А. Коллоидн. журн., 11, 3, 163, 1949.
9. Журавлев А. П., Акоюн В. Б. Ультразвуковое свечение. М., 1977.
10. Инюшин В. М. О биологической сущности эффекта Кирилян. Алма-Ата, 1968.
11. Каргин В. А. Коллоидные системы и растворы полимеров. М., 1978.
12. Катц Б. Нерв, мышца и синапс. М., 1968.
13. Леб Л. Статическая электризация. М.—Л., 1963.
14. Смилга В. П., Дерягин Б. В. Клеи и технология склеивания. Под ред. Д. А. Кашова, 1960.
15. Сент-Дьердьи А. Биоэлектроника. М., 1971.
16. Тасаки И. Нервное возбуждение. М., 1971.
17. Усанович М. И. Избр. тр., Алма-Ата, 1970.
18. Фридрихсберг Д. А. Курс коллоидной химии. Л., 1974.
19. Фуллер. Полупроводники. Под ред. Н. Б. Хеннея, М., 1962.
20. Ходжкин А. Нервный импульс. М., 1965.
21. Чопра К. Л. Электрические явления в тонких пленках. М., 1972.
22. Экзоэлектронная эмиссия. М., 1962.
23. Baldus H. Z. Angw. Physik, 6, 241—246, 1954.
24. Littl W. A. Phys. Rev., 131, 6A, 1416, 1964.
25. Russell W. J. Proc. Roy. soc. (London), 61, 424, 1897.

КРЕАТИНФОСФОКИНАЗА СЕРДЕЧНЫХ МИТОХОНДРИЙ И СУБМИТОХОНДРИАЛЬНЫХ ЧАСТИЦ И МЕТОД ПРОНИКАЮЩИХ ИОНОВ

Г. А. ЛИБЕРМАН, Г. И. ХАЧАТРЯН, Л. М. ЦОФНА

Методом проникающих ионов показано, что АДФ, добавленный к дышащим сердечным митохондриям, снижает мембранный потенциал на время синтеза АТФ, причем это снижение в некоторых пределах является функцией концентрации АДФ. Добавленный после этого креатин также вызывает снижение мембранного потенциала. Часть АТФ митохондрий используется в креатинфосфокиназной реакции, а часть выходит в окружающую среду.

С помощью креатинфосфокиназной реакции выявляются две фракции субмитохондриальных частиц. При добавлении к ним АДФ и креатинфосфата можно наблюдать генерацию разности потенциалов. Эта разность потенциалов, по-видимому, возникает на мембранах «вывернутых» субмитохондриальных частиц за счет энергии гидролиза АТФ, который синтезировался в ходе креатинфосфокиназной реакции другой фракцией их.

Креатинфосфат в клетках сердца является хранителем и переносчиком энергии от митохондрий к миофибриллам. Митохондриальный изофермент креатинфосфокиназы (КФК), осуществляющий синтез креатинфосфата, локализован на наружной стороне внутренней мембраны [10].

В ряде работ [10, 13] было высказано предположение о функциональном сопряжении между КФК и АТФ-АДТ транслоказой. Молекулы АТФ, синтезированные внутри митохондрий при окислительном фосфорилировании, с помощью транслоказы переносятся через внутреннюю мембрану митохондрий [11]. Здесь находится активный центр КФК, на котором АТФ превращается в АДФ и синтезируется креатинфосфат из креатина. Вопрос о том, какая часть АТФ, синтезированного в митохондриях, расходуется КФК-реакцией и какая часть его выходит в цитоплазму, дискутировался в ряде работ [10, 13]. Ниже приводятся данные о КФК-реакции, полученные методом проникающих ионов [1, 2]. Этот метод позволяет следить за изменением мембранного потенциала у митохондрий и субмитохондриальных частиц.

Материал и методика. Разность электрических потенциалов на мембране митохондрий и субмитохондриальных частиц (СМЧ) определялась по распределению проникающих ионов между этими частицами и окружающей средой [1, 2]. При работе с митохондриями были использованы катионы тетрафенилфосфония (ТФФ), а при работе

с СМЧ—анионы фенилдикарбаундекаборана (ФКБ). Концентрацию этих ионов в среде определяли с помощью мембранных фильтров, пропитанных растворами фосфолипидов и разделяющих два водных раствора. В одном из них концентрация проникающих ионов оставалась постоянной в течение всего эксперимента, в другой раствор добавляли митохондрии или СМЧ, при энергизации которых наблюдалось уменьшение концентрации соответствующих проникающих ионов. Об этом судили по изменению разности потенциалов на мембране-электроде $|U_{изм}|$, которая в идеальном случае связана с концентрациями ионов уравнением Нернста. Когда концентрации в водных растворах отличались в десять раз, $U_{изм}$ для анионов была близка к 60 мВ. Концентрацию ФКБ — определяли с помощью тefлоновой пористой мембраны, пропитанной н-декановым раствором азолектина в концентрации 20 мг/мл. Селективным электродом для измерения концентрации ТФФ + служили мембранные фильтры «сынпор» № 8 (Хемалол, Прага), пропитанные н-декановым раствором азолектина в концентрации 100 мг/мл. При использованных концентрациях этот электрод был не идеальным (40—50 мВ, когда концентрации ТФФ + составляли 10^{-7} – 10^{-6} М). Методы калибровки приведены в работах Либермана, Либермана и сотр. [4, 2]. $U_{изм}$ отводили неполяризующимися Ag—AgCl₂ электродами через агаровые мостики и измеряли электротрометром типа VA—J-51, соединенным с самописцем КСП-4.

В работе были использованы митохондрии, выделенные из сердца крысы по методу, описанному в работе Сакса и др. [12], и митохондрии печени крысы, изолированные по методу Мосолова [6]. «Ультразвуковые» СМЧ получали по методу [9] из фракции «тяжелых» митохондрий, выделенных из бычьих сердец по методу [8].

Состав реакционных сред: митохондрии сердца—0,025 М сахарозы, 5 мМ КН₂РO₄, 3 мМ Mg Cl₂, 0,2 мМ ЭДТА, 5 мМ глутамата, 1 мМ малата, 10 мМ сукцината, 20 мМ трис-НСl, рН 7,4; митохондрии печени—0,25 М маннит, 5 мМ КН₂РO₄, 3 мМ MgCl₂, 2 мМ ЭДТА, 10 мМ сукцината, 30 мМ трис-НСl, рН 7,5; СМЧ—0,25 сахарозы, 5 мМ MgSC₄, 5 мМ АМФ, НЕРЕС—буфер, рН 7,5.

Концентрация митохондрий и СМЧ—1 мг белка в 1 мл.

Конечные концентрации добавок следующие.

АДФ—0,2 мМ, глюкозы—20 мМ, олигомицина—2,5 мг/мл, антимицина А—1 мкг/мл, креатина (Кр)—а 10 мМ, б—20 мМ.

К среде было добавлено 0,5 мг/мл гексокиназы (рис. 1).

АДФ—50 мкМ, глюкозы—30 мМ, гексокиназы—0,5 мг/мл, олигомицина—2,5 мкг/мл, антимицина А—1 мкг/мл (2а).

Концентрации добавок АДФ и глюкозы указаны около соответствующих стрелок (2б).

КФК—2Е/мг белка СМЧ, сукцината—10 мМ, антимицина-А—1 мкг/мл,

АДФ—0,5 мМ, креатинфосфата—5 мМ, олигомицина—2,5 мкг/мл (рис. 3).

АДФ—0,5 мМ, КрФ—5 мМ, олигомицина—2,5 мкг/мл, Кр—20 мМ (рис. 4).

АДФ—0,5 мМ, КрФ—5 мМ, КФК—2 Е/мг белка СМЧ, АТФ—1 мМ, олигомицина—2,5 мкг/мл, сукцината—10 мМ, антимицина—1 мкг/мл (рис. 5).

В среду добавлялась каталаза и перекись водорода, с целью обеспечения митохондрий кислородом для окислительного фосфорилирования. Работа проводилась при комнатной температуре, $20 \pm 2^\circ$.

Результаты и обсуждение. Выход АТФ из митохондрий при синтезе креатинфосфата. На рис. 1 показаны изменения разности потенциалов на мембране-электроде и соответствующие изменения концентрации ТФФ + в среде с митохондриями сердца во времени. Можно видеть, как при добавлении митохондрий концентрация ТФФ + уменьшается, что связано с возникновением разности потенциалов на мембране митохондрий (знак «минус» в матриксе) при окислении субстратов дыхания.

Добавление АДФ уменьшает мембранный потенциал на время синтеза АТФ, и концентрация ТФФ в среде при этом возрастает. Последующая добавка 10 мМ креатина приводит к новому уменьшению $U_{изм}$ из-за появления АДФ в результате КФК-реакции (рис. 1а, кр. 1). В другом опыте (рис. 1а, кр. 2) в среде уже содержалось 10 мМ креатина, и

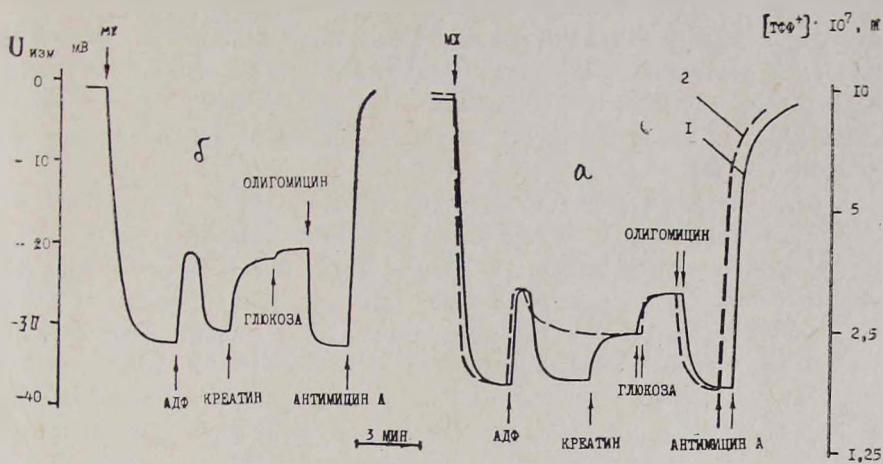


Рис. 1. Влияние системы глюкоза+гексокиназа на уровень мембранного потенциала митохондрий во время синтеза креатинфосфата.

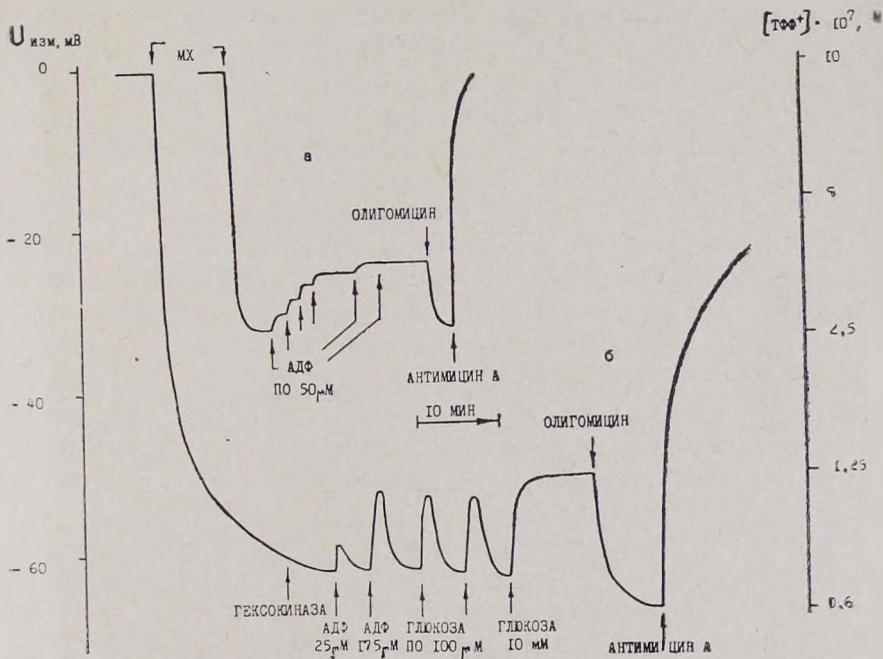


Рис. 2а. Зависимость мембранного потенциала митохондрий сердца от концентрации АДФ в присутствии системы глюкоза+гексокиназа.

Рис. 2б. Действие АДФ и глюкозы на мембранный потенциал митохондрий печени в присутствии гексокиназы.

реакция начиналась с добавления АДФ. Разница между кривыми подчеркивает влияние выхода АТФ из митохондрий в окружающую среду на мембранный потенциал, который зависит главным образом от концентрации АДФ вблизи внутренней мембраны митохондрий. На обеих кривых рис. 1а видно, что АДФ снижает мембранный потенциал до одинакового уровня, затем потенциал начинает возрастать по мере возрастания концентрации АТФ и одновременного уменьшения АДФ в окружающем растворе. В отсутствие креатина (кр. 1) потенциал возрастает до уровня, близкого к исходному, а в присутствии его—до нового уровня (кр. 2). До этого же уровня он возрастает после добавления креатина (кр. 1).

В стационарных условиях в отсутствие системы, превращающей АТФ в АДФ в наружной среде, потока АТФ из митохондрий нет. Чтобы вызвать стационарный выход АТФ через наружную мембрану из митохондрий использовалась растворенная в окружающей среде система глюкоза+гексокиназа, которая превращает АТФ в АДФ. При добавке глюкозы эта система начинала работать и повышать концентрацию АДФ. Это приводило к дополнительному снижению $U_{изм}$, так как мембранный потенциал митохондрий является функцией концентрации АДФ. Зависимость потенциала от концентрации АДФ в наружном растворе в присутствии системы глюкоза+гексокиназа показана на рис. 2а (гексокиназа и глюкоза, 20 мМ, были добавлены в среду заранее). Следует отметить, что в коммерческих препаратах сахарозы всегда содержится некоторое количество глюкозы, поэтому особенно при работе с митохондриями печени для создания осмотического давления лучше использовать маннит. В такой среде, как показано на рис. 2б, добавление небольшого количества глюкозы вызывает снижение мембранного потенциала на время синтеза глюкозо-6-фосфата.

На кривых рис. 1а и б видно, что добавление глюкозы к сердечным митохондриям в присутствии креатина снижает разность потенциалов, причем это снижение выражено сильнее при концентрации креатина 10 мМ, чем при концентрации 20 мМ (рис. 1б). Олигомицин ингибирует синтез АТФ, и разность потенциалов принимает прежнее значение. Антимидин А снимает разность потенциалов, прекращая дыхание митохондрий. Приведенные данные позволяют заключить, что АТФ, действительно, выходит из митохондрий и не попадает прямо на КФК, как предполагали ранее [10, 13], причем концентрация наружного АТФ и креатина определяет степень этого выхода.

Генерация мембранного потенциала субмитохондриальными частями при гидролизе АТФ, образуемого при обратной КФК-реакции. При энергизации СМЧ во время окисления субстратов дыхания или гидролиза АТФ наблюдается поглощение проникающих анионов F_2B^- , что свидетельствует о возникновении на их мембране разности потенциалов со знаком «плюс» внутри СМЧ [1, 2]. Поглощение F_2B^- происходит и при обратной КФК-реакции, продуктами которой являются АТФ и креатин. На рис. 3 можно видеть, как добавление креатинфосфата в присут-

ствии КФК и АДФ приводит к генерации разности потенциалов. Она снимается олигомицином, следовательно, именно появление АТФ в ходе КФК-реакции является источником энергии для генерации потенциала. В среде с СМЧ был добавлен АМФ, чтобы предотвратить образование АТФ за счет аденилаткиназной реакции.

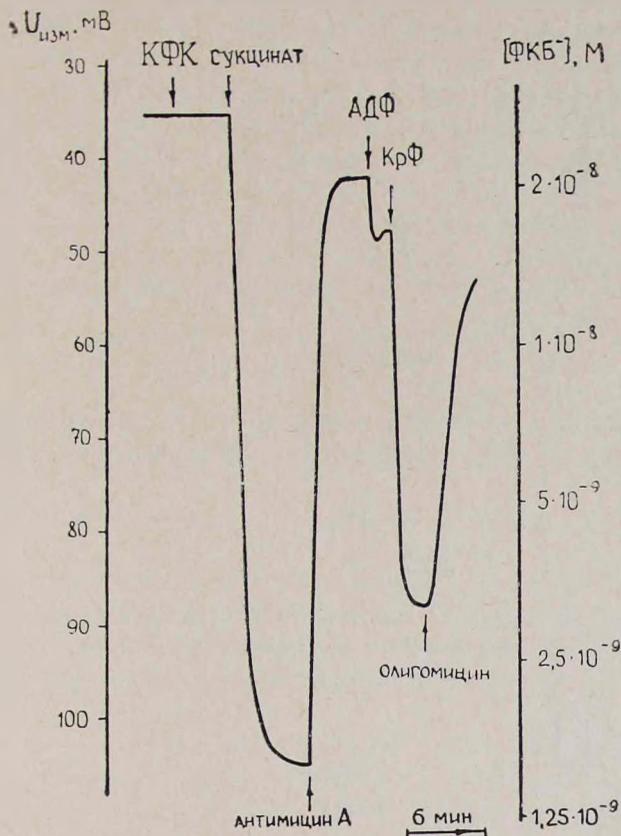


Рис. 3. Генерация разности потенциалов субмитохондриальными частицами при окислении сукцината и при обратной КФК-реакции.

На рис. 4 приведены данные, свидетельствующие о том, что СМЧ сами обладают КФК-активностью: добавление креатинфосфата в присутствии АДФ или АДФ в присутствии креатинфосфата вызывает генерацию разности потенциалов на мембране СМЧ без всякого добавления КФК. Креатин немного уменьшает, а олигомицин полностью снимает ее. Эти результаты можно объяснить наличием двух типов СМЧ: так называемых «вывернутых», которые поглощают $ФКБ^-$, и с такой же ориентацией мембраны, как у митохондрий. Именно у последних КФК локализована на наружной стороне их мембраны и доступна для субстратов. Образовавшийся в ходе КФК-реакции АТФ гидролизуется АТФазой «вывернутых» СМЧ, возникновение разности потенциалов на мембране которых и обнаруживается поглощением $ФКБ^-$. На рис. 5 показано, что после преннкубации СМЧ с ингибитором КФК 1-фтор-2,4-динитробензо-

лом (ФДНБ) креатинфосфат в присутствии АДФ уже не вызывал генерации разности потенциалов. Она появлялась при добавлении КФК, но не достигнув плато, падала по мере того, как присутствующий в среде ФДНБ инактивировал КФК. Введение АТФ сопровождалось генерацией

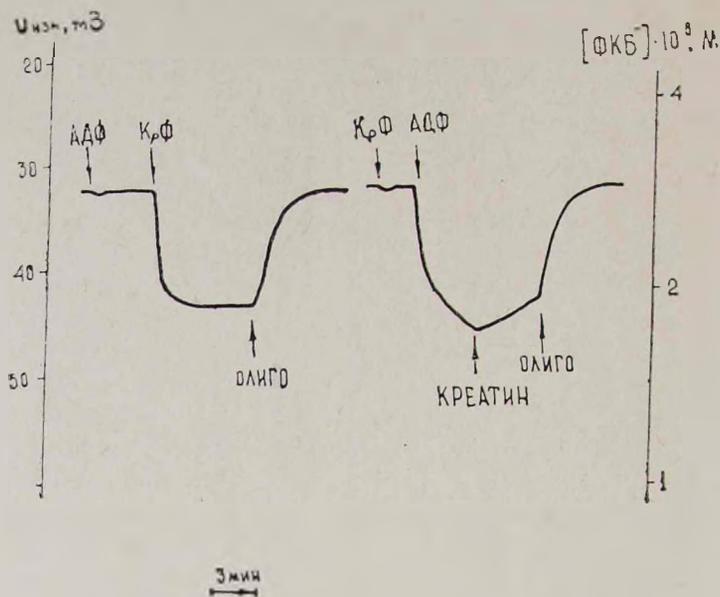


Рис. 4. Разность потенциалов на мембране СМЧ, возникающая при гидролизе АТФ, синтезируемого в ходе обратной КФК-реакции.

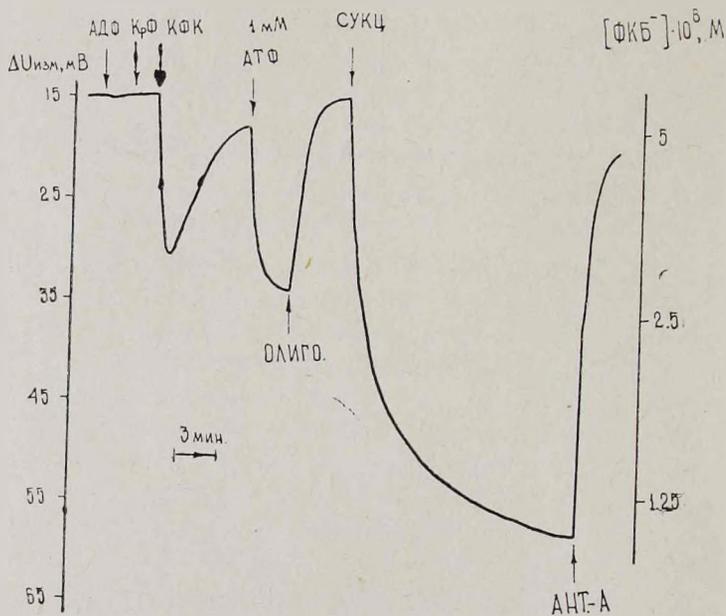


Рис. 5. Влияние $2 \cdot 10^{-5}$ М ингибитора КФК 1-фтор-2,4-динитробензола на мембранный потенциал СМЧ.

разности потенциалов, которая снималась олигомицином. ФДНБ ингибирует КФК, но не подавляет АТФазу.

До сих пор с помощью проникающих ионов не удавалось обнаружить фракцию СМЧ с нормально ориентированной мембраной. Дело в том, что проникающие катионы ТФФ⁺ позволяют определять разность потенциалов, которая превышает 140—150 мВ [4]. Проникающие анионы ФКБ⁻ поглощаются в основном мембранами и позволяют поэтому обнаруживать мембранные потенциалы небольшой величины [5]. Оценка величины мембранного потенциала у СМЧ с помощью ФКБ компенсационным методом [5] показала, что он обычно не превышает 100 мВ. Этим можно объяснить неудачу попыток обнаружить генерацию разности потенциалов у невывернутых СМЧ с помощью ТФФ⁺. Таким образом, методом проникающих ионов с помощью КФК-реакции выявлено два типа СМЧ с разной ориентацией мембраны. Эти данные согласуются с результатами, полученными другим методом [2].

Институт проблем передачи информации СССР, Москва

Институт биохимии АН АрмССР, Ереван

Поступило 4.VI 1979 г.

ՄՐՏԻ ՄԻՏՈՔՐՈՆԻՐԻԱՆԵՐԻ ԵՎ ՍՈՒԲՄԻՏՈՔՐՈՆԴՐԻԱԿ ՄԱՍՆԻԿՆԵՐԻ ԿՐԵԱՏԻՆՖՈՍՖՈԿԻՆԱԶԱՆ ԵՎ ԹՄՓԱՆՑՈՂ ԻՈՆՆԵՐԻ ՄԵԹՈԴԸ

Ե. Ա. ԼԻԲԵՐՄԱՆ, Գ. Ի. ԽԱՉԱՏՐՅԱՆ, Լ. Մ. ՑՈՖԻՆԱ

Թափանցող իոնների մեթոդով ցույց է տրվում, որ շնչառական վիճակում գտնվող սրտի միտոքոնդրիաներին ավելացրած ԱՏՖ-ը հանգեցնում է պոտենցիալների տարբերության ժամանակավոր անկման (ԱՏՖ-ի սինթեզի ժամանակ), ընդ որում այդ անկումը որոշ սահմաններում ֆունկցիա է ԱՏՖ-ի կոնցենտրացիայից:

Այդպիսի ժամանակավոր անկումից հետո ավելացրած կրեատինը նույնպես բերում է պոտենցիալների տարբերության նվազման:

Միտոքոնդրիաներում առաջացած ԱՏՖ-ի մի մասը օգտագործվում է կՅԿ՝ ռեակցիայի ժամանակ, իսկ մյուս մասը դուրս է մղվում արտաքին միջավայր:

Կրեատինֆոսֆոկինազային ռեակցիայի օգնությամբ ի հայտ է բերված սուբմիտոքոնդրիալ մասնիկների երկու ֆրակցիա: ԱՏՖ-ի և կրեատինաֆոսֆատի ներկայությամբ սուբմիտոքոնդրիալ մասնիկների թաղանթների վրա առաջանում է պոտենցիալների տարբերություն, սրբ առաջանում է հակառակ օրինակ տացիա ունեցող մասնիկների թաղանթների վրա՝ ի հաշիվ նորմալ օրինակ տացիա ունեցող մասնիկների վրա կրեատինֆոսֆոկինազային ռեակցիայի ժամանակ առաջացած ԱՏՖ-ի հիդրոլիզի:

CREATINE PHOSPHOKINASE OF HEART MITOCHONDRIA AND SUB-MITOCHONDRIAL PARTICLES AND THE METHOD OF PENETRATING IONS

E. A. LIBERMAN, G. I. KHACHATRYAN, L. M. TSOFINA

By the method of penetrating ions it has been shown that ADP added to the respiring heart mitochondria temporarily decreases the membrane

potential for the time of ATP synthesis. Creatin added after ADP also decreases the membrane potential. A part of the mitochondrial ATP is used in creatine phosphokinase reaction and the other part releases into surroundings.

Л И Т Е Р А Т У Р А

1. Либерман Е. А., Цофина Л. М. Биофизика, 14, 1017, 1969.
2. Либерман Е. А., Владимирова М. А., Цофина Л. М. Биофизика, 22, 255, 1977.
3. Либерман Е. А., Хачатрян Г. И., Цофина Л. М. Биофизика, 24, 347, 1979.
4. Либерман Е. А. Биофизика, 22, 1115, 1977.
5. Либерман Е. А., Арзуманян А. М., Владимирова М. А., Цофина Л. М. Биофизика, 21, 476, 1976.
6. Мосолова И. М., Горская И. А., Шольц К. Ф., Котельникова А. В. Вопросы мед. химии, 17, 3, 286, 1971.
7. Baba N., Kim S., Farrell E. C. J. Mol. and Cell. Cardiol., 8, 599, 1976.
8. Crane T. L., Gleen J. L., Green D. Biochim. et biophys. acta, 22, 475, 1956.
9. Hansen M., Smith A. L. Biochim. et biophys. acta, 31, 214, 1964.
10. Jacobus W. E., Lehninger A. L. J. Biol. Chem., 248, 4803, 1973.
11. Klingenberg M. Essays Biochem. 6, 119, 1970.
12. Saks V. A., Chernousova G. B., Gukovsky D. E., Smirnov V. N., Chazov E. I. Eur. J. Biochem., 57, 273, 1975.
13. Saks V. A., Lipina N. V., Smirnov V. N., Chazov E. I. Arch. Biochem. Biophys., 173, 34, 1976.
14. Scholte H. R., Weijers P. J. Biochim et Biophys. acta, 291, 764, 1973.

КОНТРАСУПРЕССОРНАЯ АКТИВНОСТЬ КЛЕТОК ЛИМФАТИЧЕСКИХ УЗЛОВ

С. С. ГАМБАРОВ

Клетки лимфатических узлов отменяют специфическую супрессию иммунного ответа, индуцируемую переносом клеток селезенки от иммунных мышей. Неспецифическая супрессия, развившаяся в процессе реакции «трансплантат против хозяина», значительно ослабевает под влиянием клеток лимфатических узлов.

В последние годы был выявлен регуляторный характер взаимодействия тимусзависимых лимфоцитов (Т-клеток) с предшественниками антителообразующих клеток (В-клеток) при развитии гуморального иммунного ответа [2]. Т-клетки могут не только помогать (Т-хелперы) В-клеткам, но и оказывать супрессивное действие (Т-супрессоры), которое может иметь как специфический, так и неспецифический характер [2].

В специальных экспериментальных моделях нами изучалось влияние клеток лимфатических узлов на эффекты специфической и неспецифической супрессии иммунного ответа, индуцируемой клетками селезенки.

Материал и методика. Эксперименты проведены на мышах линии СВА и гибридах (СВА×С57ВL/6) F₁. Неспецифическая супрессорная активность изучалась на модели, предложенной Меллером [5]. Клетки селезенки от мышей СВА в дозе 50·10⁶ вводили интактным мышам (СВА×С57ВL/6)F₁. Через 7 дней после трансплантации клеток селезенки реципиентов иммунизировали эритроцитами барана (5·10⁸).

Специфическую супрессорную активность изучали на модели Визлера [8].

Мышей СВА иммунизировали эритроцитами барана в дозе 3·10⁹. Спустя 2 недели клетки селезенки иммунизированных мышей вводили интактным мышам СВА или (СВА×С57ВL/6)F₁ [6]. Реципиентов селезеночных клеток в тот же день иммунизировали эритроцитами барана. В ряде опытов вместе с клетками селезенки реципиентам переносили клетки лимфатических узлов в дозе 2,5·10⁶ от интактных или обработанных циклофосфамидом (200 мг/кг) за 24 часа до взятия клеток мышей. На пятый день после иммунизации в селезенке реципиентов методом Эрне [3] определяли число антителообразующих клеток (АТОК).

Материал обработан статистически с определением средней геометрической, а также верхней и нижней границ ее доверительного интервала при P=0,01.

Результаты и обсуждение. Введение клеток селезенки мышей СВА гибридам (СВА×С57ВL/6) F₁ за 7 дней до иммунизации значительно подавляет иммунный ответ к эритроцитам барана (90%). Супрессия им-

мунного ответа в этой модели не связана с токсическим эффектом реакции трансплантат против хозяина (табл. 1).

В ряде работ были получены прямые доказательства того, что уг-

Таблица 1

Влияние клеток лимфатических узлов на неспецифический супрессивный эффект клеток селезенки

Количество введенных клеток, млн		Число мышей	Количество антителообразующих клеток $Mg \pm 1p$ ($p=0,01$)
селезенка	лимфатические узлы		
—	—	10	354900 (402000 \div 313000)
50	—	11	20170 (24160 \div 16230)
—	2,5	7	299500 (333600 \div 269000)
50	2,5	16	139500 (161100 \div 120900)

Примечание: доноры клеток—мыши СВА, реципиенты—(СВА \times С57ВL/6).

нетение иммунного ответа в процессе развития реакции «трансплантат против хозяина» (РТПХ) связано с присутствием активно подавляющих клеток [5, 6]. Индуцируемые при развитии РТПХ Т-клетки супрессоры оказывают неспецифическое угнетающее действие, которое может быть опосредовано через макрофаги [5, 6].

Как видно из табл. 1, введение клеток лимфатических узлов интактных мышей СВА в дозе $2,5 \cdot 10^6$ гибридам (СВА \times С57ВL/6) F_1 не оказывало никакого влияния на развитие иммунного ответа к эритроцитам барана у реципиентов, но значительно снижало (с 90 до 50%) индуцируемую клетками селезенки неспецифическую супрессию иммунного ответа у гибридов (СВА \times С57ВL/6) F_1 .

В следующей серии экспериментов изучали влияние клеток лимфатических узлов на специфическую супрессию иммунного ответа, развивающуюся при переносе клеток селезенки от сингенных иммунизированных мышей.

Если через две недели после иммунизации мышей эритроцитами барана в дозе $3 \cdot 10^9$ клетки их селезенки перенести интактным сингенным реципиентам, то у последних значительно подавляется развитие иммунного ответа к эритроцитам барана (табл. 2).

Это угнетение носит специфический характер: угнетается иммунный ответ только к тому антигену, которым иммунизировали донора [1, 8]. Иммунизация доноров индуцирует накопление у них специфических супрессоров.

Как видно из табл. 2, супрессивный эффект наблюдался также при переносе клеток селезенки иммунизированных (эритроцитами барана) мышей СВА гибридам (СВА \times С57ВL/6) F_1 , причем и в этой модели угнетение носит специфический характер: наблюдается угнетение иммунного ответа к эритроцитам барана, но не к эритроцитам крысы (не-

Влияние клеток лимфатических узлов на специфический супрессивный эффект клеток селезенки

Количество введенных клеток, млн		Реципиент	Число мышей	Количество антителообразующих клеток $M \pm Ip$ ($p=0,01$)
селезенка	лимфатические узлы			
—	—	СВА	12	119300 (152200—93500)
50	—	СВА	11	12770 (18340—8898)
50	2,5	СВА	8	11690 (19860—6902)
—	—	(СВА × С57BL/6)	9	98550 (135300—63250)
50	—	(СВА × С57BL/6)	16	11760 (14680—5421)
—	2,5	(СВА × С57BL/6)	5	101400 (187500—54880)
50	2,5	(СВА × С57BL/6)	15	65650 (118800—63170)
50	2,5*	(СВА × С57BL/6)	6	82450 (151800—44700)

Примечание: *) доноры клеток лимфатических узлов обрабатывались циклофосфамидом.

опубликованные данные). При изучении феномена специфической супрессии эритроциты барана вводят в тот же день, что и клетки. Если селезеночные клетки, обладающие специфической супрессорной активностью, вводить вместе с сингенными (СВА) клетками лимфатических узлов интактных мышей полусингенным реципиентам, то у последних почти не наблюдается угнетения иммунного ответа к эритроцитам барана (табл. 2). Клетки лимфатических узлов не снижают супрессорную активность клеток селезенки при переносе их сингенным мышам (модель СВА→СВА).

Таким образом, клетки лимфатических узлов при условии их активации антигенами гистосовместимости (модель СВА→F₁) почти полностью отменяют специфическую активность селезеночных клеток.

В отдельных экспериментах доноров клеток лимфатических узлов обрабатывали циклофосфамидом в дозе 200 мг/кг, при которой поражаются преимущественно В-клетки. В то же время Т-клетки, обладающие вспомогательной функцией при развитии кооперативного иммунного ответа, не поражаются [7].

Как видно из табл. 2, клетки лимфатических узлов от мышей, обработанных циклофосфамидом, и интактных мышей обладают одинаковой контрагнессорной активностью. Следовательно, контрагнессорная активность обусловлена не В-клетками.

Можно предположить, что способность клеток лимфатических узлов (содержащих до 70% Т-клеток) оказывать влияние на специфическую супрессию, индуцируемую селезеночными клетками-супрессорами, является следствием взаимодействия различных субпопуляций Т-лимфоцитов.

Таким образом, как видно из вышеприведенных данных, клетки лимфатических узлов обладают контрагнессорной активностью.

Специфическая супрессия иммунного ответа, имеющая место при переносе клеток селезенки от иммунных мышей, отменяется клетками лимфатических узлов.

ԼԻՄՖՈՏԻԿ ՀԱՆԳՈՒՅՑՆԵՐԻ ԲՋԻՋՆԵՐԻ ՀԱԿԱՍՈՒՊՐԵՍԻՎ ԱԿՏԻՎՈՒԹՅՈՒՆԸ

Ս. Ս. ԳԱՄԲԱՐՈՎ

Հատուկ փորձարարական մոդելներով ցույց է տրվում, որ լիմֆոտիկ հանգույցների բջիջները հեռացնում են իմունային պատասխանի սպեցիֆիկ սուպրեսիան, որը տեղի է ունենում իմունային մկների փայծաղի բջիջների փոխանցման ժամանակ: Ոչ սպեցիֆիկ սուպրեսիան, որը զարգանում է «տրանսպլանտատ ընդդեմ տիրոջ» ռեակցիայի պրոցեսում, բավականաչափ թուլանում է լիմֆոտիկ հանգույցների բջիջների ազդեցության ներքո:

COUNTERSUPPRESSIVE ACTIVITY OF LYMPHATIC
GANGLION CELLS

S. S. GAMBAROV

In special experimental models it has been shown that lymph node-cells repeal specific suppression of immune response induced by spleen cell transfer from the immune mice.

Nonspecific suppression developing during the reaction "graft versus host" is considerably reduced by the influence of lymph node cells.

Л И Т Е Р А Т У Р А

1. Писарев В. М., Певницкий Л. А. Бюлл. экспер. биол., 5, 571, 1977.
2. Gershon R., *Contemp Topics Immunobiol.*, 3, 1, 1974.
3. Jerne N. K., Nordin A. A. *Science*, 140, 405, 1963.
4. Møller G. *Immunology*, 20, 597, 1971.
5. Shand F. L. *Immunology*, 29, 953, 1975.
6. Sjöberg O. *Clin. Exp. Immunol.*, 12, 369, 1972.
7. Lefkovits H. K., Rober K., Lefkovits I. *Intern. Arch. Allergy, Appl. Immunol.*, 46, 689, 1974.
8. Whisler R., Stobo J. *Fed. Proc.*, 34, 1037, 1975.

ИССЛЕДОВАНИЕ ХРОМАТИНА ПЕЧЕНИ КРЫС
ПРИ ВЫСОКОБЕЛКОВОЙ И БЕЗБЕЛКОВОЙ ДИЕТЕ

Р. Р. КАЗАРЯН, М. А. ДАВТЯН

Проведен флуоресцентный анализ хроматина, выделенного из печени белых крыс при высокобелковой и безбелковой диете. Хроматин, полученный при высокобелковой диете, подвергается конформационным изменениям структуры с проявлением новых флуоресцирующих комплексов в области длин волн возбуждения 230—270 нм, в пределах спектра эмиссии 340—470 нм. Аналогичные комплексы обнаруживаются при высокобелковой диете с адреналэктомией. При безбелковой диете в флуоресцирующих характеристиках хроматина изменений не обнаруживается.

К числу факторов, обуславливающих повышение в организме уровня продуктов белкового катаболизма, относится также высокобелковая диета, вызывающая индукцию как ферментов орнитинового цикла, так и других катаболических ферментов, присутствующих в печени животных [4, 6, 10—13, 15—17, 20]. Ранее с помощью метода флуоресцентного анализа нами были выявлены качественные конформационные изменения структуры хроматина при гормональной индукции гидрокортизоном [2], с проявлением новых флуоресцирующих комплексов в области волн возбуждения 230—270 нм в пределах спектра эмиссии 330—485 нм. При этом положение максимума спектра эмиссии хроматина при 340 нм, обусловленного триптофановой флуоресценцией [3], также претерпело определенные изменения (сдвиг в ультрафиолетовую область с подавлением квантового выхода флуоресценции).

В настоящей работе приводятся результаты исследования флуоресцирующих свойств хроматина при высокобелковой диете, вызывающей индукцию аргиназы и ряда других катаболических ферментов, присутствующих в печени крыс [4, 6, 10—13, 15—17, 20].

Материал и методика. В экспериментах использовались белые крысы массой 120—150 г. Методика получения хроматина включала предварительное выделение ядер [5, 7] (в 0,25 М сахарозе, 0,25 М сахарозе с 0,5% тритон-х-100), с дальнейшей очисткой их через слой 2,2 М сахарозы ($d=1,291$), при рН буферных растворов 7,5. Дальнейшую очистку клеточных ядер для получения хроматина проводили растворами 0,024 М ЭДТА с 0,075 М NaCl (рН 8), а также 0,05, 0,01, 0,02 и 0,001 М трис-буфером (рН 8). Все этапы получения хроматина описаны ранее [2]. Белок определяли по Лоури [14], ДНК — по Дише [8], РНК — спектрофотометрически после гидролиза IN HClO_4 . Соотношение белок/ДНК во всех исследованных препаратах хроматина составляло 2:1, соотношение РНК/ДНК — 0,04:1. Спектральные характеристики препаратов хроматина снимали на спектрофотометрах СФ-4А и СФ-16.

Исследовались препараты хроматина, полученные при четырех различных состояниях организма животных: в норме, при высокобелковой диете, высокобелковой диете с адреналэктомией и безбелковой диете. Удаление надпочечников производили под эфирной анестезией. Адреналэктомированные крысы получали рацион высокобелковой диеты [18], в котором питьевую воду заменяли 0,9% NaCl. В качестве источника белка использовался авитаминизированный казеин с содержанием белка 25—75%. Этот режим поддерживали в течение 14 дней. За этот период крысы адаптировались к нему. Вес животных в течение двух недель практически не менялся. На 10-й день часть крыс подвергалась операции по удалению надпочечников.

Безбелковая диета содержала следующие компоненты: вместо авитаминизированного казеина декстрин (84%), кукурузное масло (9%), физиологический раствор NaCl (4%), агар (2%), жир печени трески (1%) и витаминподкрепляющая микстура — раствор уидевита или гендевита (2%).

На пятнадцатый день животные забивались и проводились выделение и очистка хроматина. Все препараты хроматина подвергались детальному флуоресцентному анализу на всех длинах волн энергии активации. Спектры возбуждения и эмиссии регистрировались на флуоресцентном спектрофотометре MPF-2A (Hitachi, Япония) в кварцевых прямоугольных кюветах, при комнатной температуре, с высокими чувствительностями (SS-5, SS-6), в многократных разбавлениях 1×10^{-3} M трис-HCl буфера, pH 8. Для сравнительного анализа полученных данных спектры флуоресценции регистрировались на люминесцентной установке с монохроматическим возбуждением [1] (линия ртути 296, 280, 270, 240 нм от лампы СВД-120). Температура контролировалась непосредственно в кювете полупроводниковым микротермоспрогнольшем МТ-54 системы Карманова. Для устранения градиента температуры раствор в кювете перемешивался механической стеклянной мешалкой.

Результаты и обсуждение. Как известно, существует прямая зависимость между активностью ферментов сринтинового цикла и содержанием белка в рационе. По мере увеличения белка в рационе (6, 25, 60, 75%) активность как печеночной аргиназы, так и остальных ферментов синтеза мочевины повышается [10—13, 15, 16], при этом повышенные активности аргиназы сопровождается пропорциональным увеличением экскреции мочевины [6].

Учитывая эти литературные данные, в первой серии экспериментов мы предприняли попытку исследовать флуоресцентные свойства хроматина, выделенного из печени крыс при высокобелковой диете. Как показали исследования, он имеет один максимум спектра возбуждения при 295 нм и один максимум спектра эмиссии при 340 нм (рис. 1). Как видно из рис. 1, максимумы спектров возбуждения и эмиссии хроматина как в норме, так и при высокобелковой диете практически идентичны, с незначительной разницей в интенсивности флуоресценции. Таким образом, в отличие от гормональной индукции гидрокортизоном [2], когда положение максимума спектра эмиссии хроматина сдвигается при 340 нм в ультрафиолетовую область примерно на 10 нм, с подавлением квантового выхода флуоресценции, при высокобелковой диете оно [3] каких-либо изменений не претерпевает. С другой стороны, флуоресцентный анализ хроматина, полученного при высокобелковой диете, показал, что в области длин волн возбуждения 230—270 нм происходят качественные изменения в структуре хроматина с проявлением новых флуоресцирующих комплексов в пределах спектра эмиссии 340—470 нм (рис. 2, 3).

В следующей серии экспериментов исследовались флуоресцентные характеристики хроматина при безбелковой диете, когда вследствие усиленного распада тканевых белков также может происходить некото-

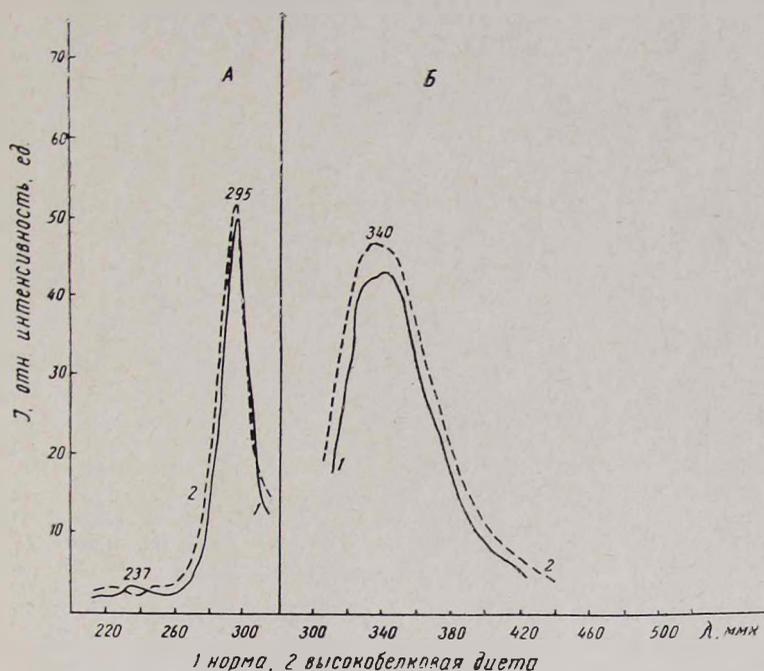


Рис. 1. Спектры возбуждения (А) и эмиссии (Б) хроматина, выделенного из печени белых крыс. Ширина щелей монохроматоров возбуждения и эмиссии— 4 нм. 1. Нативный хроматин, разбавленный в $\times 20$ в 1×10^{-3} М трис-НСI буфере, рН 8. 2. Хроматин, полученный при высокобелковой диете, разбавленный в $\times 20$ в 1×10^{-3} М трис-НСI буфере, рН 8.

рое активирование аргиназы и других катаболических ферментов. Однако при длительной безбелковой диете, когда распад тканевых белков предотвращается с сохранением калорийности пищи за счет жиров и углеводов, наблюдается снижение активности аргиназы и других ферментов орнитинового цикла [19, 21].

Как показали результаты исследования, хроматин, полученный при безбелковой диете, практически не претерпевает каких-либо изменений в максимумах спектров возбуждения и эмиссии исходного препарата (295 и 340 нм) (рис. 4). В то же время детальный флуоресцентный анализ показал, что никаких качественных перестроек в флуоресцентных характеристиках хроматина при всех длинах волн энергии активации также не происходит; четко выявлялся лишь основной флуоресцирующий комплекс при 340 нм (рис. 4).

Суммируя полученные данные, можно сказать, что в отличие от высокобелковой диеты, при безбелковой, когда калорийность пищи сохраняется за счет добавочных количеств жиров и углеводов, аргиназа

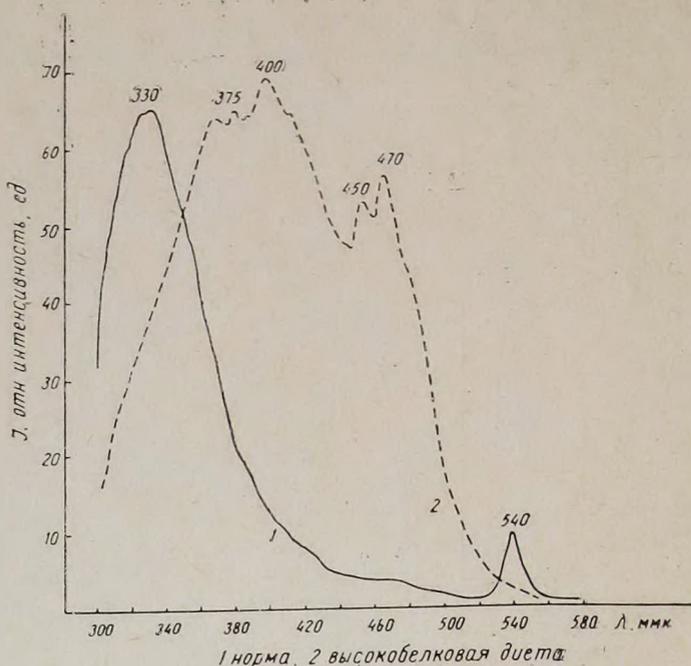


Рис. 2. Флуоресценция хроматина при длине волны возбуждения $E_{\lambda W}$ —270 нм. Ширина щелей монохроматоров возбуждения и эмиссии — 6 нм. Разъяснения 1, 2 см на рис. 1

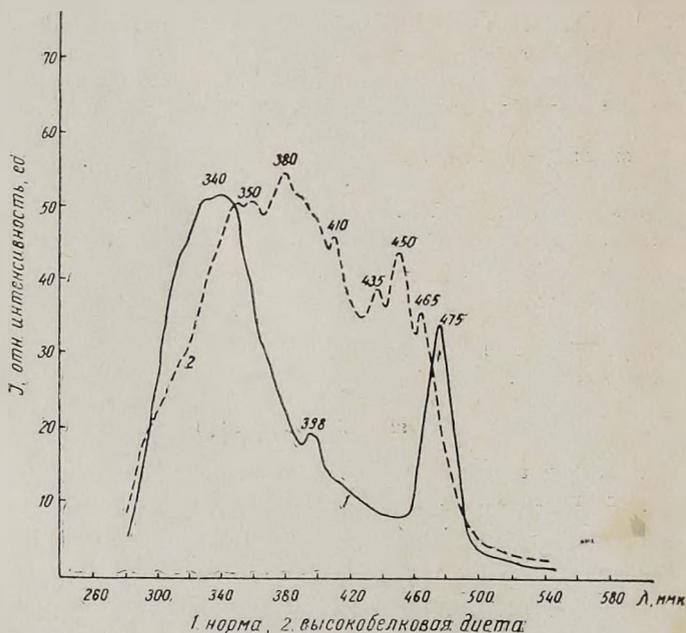


Рис. 3. Флуоресценция хроматина при длине волны возбуждения $E_{\lambda W}$ —237 нм. Ширина щелей монохроматоров возбуждения и эмиссии — 8 нм. Разъяснения 1, 2 см., на рис. 1.

и другие катаболические ферменты не индуцируются, и в флуоресцентных характеристиках хроматина изменений не происходит.

По данным Шимке [17], повышение активности аргиназы и других ферментов орнитинового цикла при высокобелковой диете происходит и у адrenaлэктомированных крыс. Аналогичный результат получен и Фридлэндом [9].

Для выяснения влияния функций надпочечников на флуоресцентные свойства хроматина следующая серия экспериментов проводилась на адrenaлэктомированных крысах, получивших полный рацион высокобелковой пищи. Как показали полученные данные, выделенный из печени этих крыс хроматин в максимумах спектров возбуждения и эмиссии изменений не претерпевает, обнаруживая характерные показатели (295 и 340 нм) нативного хроматина, обусловленного триптофановой флуоресценцией [3].

Однако в области длин волн возбуждения 230—270 нм обнаруживается аналогичный наблюдаемому при высокобелковой диете крыс в пределах спектра эмиссии 340—370 нм (рис. 2, 3) сигнал новых флюо-

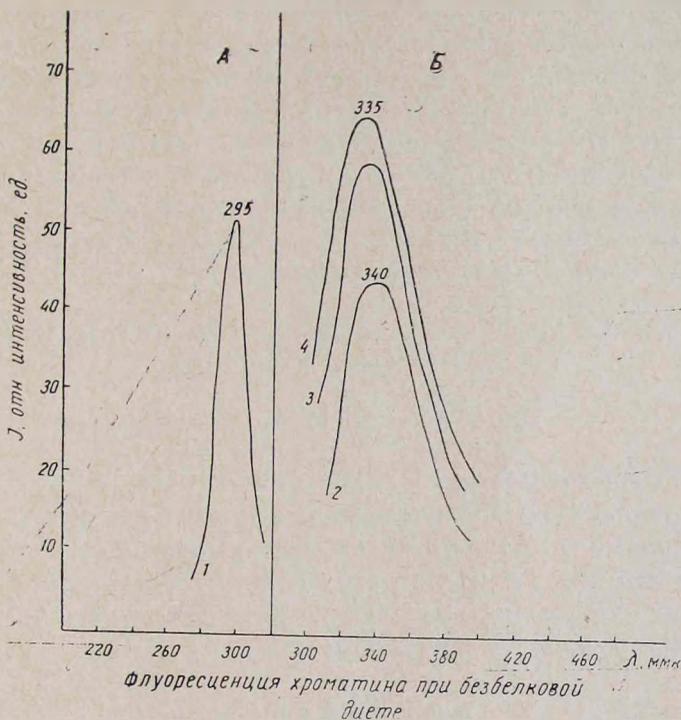


Рис. 4. Спектр возбуждения (А) при длине волны эмиссии E_{mW} —340 нм и спектры эмиссии (Б) при длине волн возбуждения E_{xW} —295 нм (2), E_{xW} —270 нм (3) и E_{xW} —230 нм (4) хроматина, полученного при безбелковой диете. Ширина щелей монохроматоров возбуждения и эмиссии—(1; 2)—4 нм, (3) — 6 нм, (4) — 8 нм.

ресцирующих комплексов. По-видимому, индукция аргиназы и ряда других катаболических ферментов при высокобелковой диете осуществляется не через адrenaловую железу.

В заключение следует сказать, что при гормональной индукции гидрокортизоном [2] и высокобелковой диете, когда продукты белкового распада вызывают индукцию аргиназы и ряда других катаболических ферментов [4, 6, 10—13, 15—17, 19, 20] в области длин волн возбуждения 230—270 нм, обнаруживаются качественные конформационные изменения в структуре хроматина с проявлением новых флуоресцирующих групп в пределах спектра эмиссии 340—370 нм.

Ереванский государственный университет,
кафедра биохимии

Поступило 22. VI 1979 г.

**ԱՌՆԵՏՆԵՐԻ ԼՅԱՐԴԻ ՔՐՈՄԱՏԻՆԻ ՀԵՏԱԶՈՏՈՒԹՅՈՒՆԸ
ԲԱՐՁՐ ՍՊԻՏԱԿՈՒՑԱՅԻՆ ԵՎ ՍՊԻՏԱԿՈՒՑԱԶՐԿՎԱԾ
ԴԻԵՏԱՅԻ ՊԱՅՄԱՆՆԵՐՈՒՄ**

Ռ. Ռ. ՂԱԶԱՐՅԱՆ, Մ. Ա. ԴԱՎԻՅԱՆ

Կատարված է սպիտակ առնետների լյարդից ստացված քրոմատինի ֆլուորեսցենտային անալիզ՝ բարձր սպիտակուցային և սպիտակուցազրկված դիետայի պայմաններում: Բարձր սպիտակուցային դիետայի պայմաններում ստացված քրոմատինի մեջ հայտնաբերվել են կառուցվածքի կոնֆորմացիոն փոփոխություններ նոր ֆլուորեսցենտային կոմպլեքսների ձևով, զրգոման ալիքների 230—270 նմ երկարության շրջանում, էմիսիայի սպեկտրի 340—470 նմ սահմաններում: Նույնանման կոմպլեքսներ են արտահայտվում բարձր սպիտակուցային դիետայի պայմաններում ադրենալեկտամիայից հետո: Սպիտակուցազուրկ դիետայի պայմաններում քրոմատինի ֆլուորեսցենտային ցուցանիշներում փոփոխություններ չեն հայտնաբերվել:

**STUDY OF RAT LIVER CHROMATIN UNDER THE HIGH-PROTEIN
AND NON-PROTEIN DIET**

R. R. KAZARIAN, M. A. DAVTIAN

Fluorescent analysis of chromatin isolated from the liver of white rats under high-protein and non-protein diet has been carried out.

In chromatin, obtained under high-protein diet conformational changes in structure with the display of new fluorescing complexes in the range of excitation wave lengths 230—270 nm, and in the limits 340—470 nm of emission spectrum have been revealed.

Л И Т Е Р А Т У Р А

1. Владимиров Ю. А., Литвин Ф. Ф. Практикум по общей биофизике, вып. 8, М., 1964.
2. Давтян М. А., Казарян Р. Р., Демин Ю. М. Биолог. ж. Армении, 32, 1, 1979.
3. Казарян Р. Р., Демин Ю. М., Тираццун С. Г., Манвелян А. Г. Биолог. ж. Армении, 31, 7, 1978.
4. Ковальский В. В., Луцкий Д. Я. ДАН СССР, 63, 1007, 1965.
5. Лавриенко И. А., Морозова Т. М., Юшквас Л. Ф. Молекулярная биология, 5, 1, 1971.

6. *Ashida K. and Harper A. E.* Proc. Soc. Exper. Biol. and Med., *107*, 151, 1961.
7. *Chauveau J., Moule Y., Rouiller C.* Exptl. Cell Res., *11*, 317, 1956.
8. *Dishe Z.* Microchemie, *8*, 9, 1930.
9. *Freedland R. A.* Proc. Soc. Exper. Biol. and Med., *116*, 692, 1964.
10. *Kiryama Sh., Iwao H. and Ashida K.* Agric. and Biol. Chem., *31*, 671, 1968.
11. *Kochakian C. D. Bartett M. N. and Moe J.* Amer. J. Physiol., *154*, 489, 1948.
12. *Van der Lee P. J. and Gorter A.* Enzymologia, *4*, 129, 1937.
13. *Lightbody H. D. and Kleinman A. J.* Biol. Chem., *129*, 71, 1939.
14. *Lowry D. U., Rosenbrough N. J. et al.* J. Biol. Chem., *193*, 265, 1951.
15. *Mandelstam J. and Gudkin J.* Biochem., J., *51*, 681, 1962.
16. *Schimke R. T.* J. Biol. Chem., *237*, 459, 1962b.
17. *Schimke R. T.* J. Biol. Chem., *238*, 1012, 1963.
18. *Schimke R. T.* Biochim. Biophys. Acta, *62*, 599—601, 1952.
19. *Schimke R. T.* J. Biol. Chem., *237*, 1921, 1962a.
20. *Schimke R. T., Brown M. B. and Smallman E. T.* Ann. N. Y., Acad. Sci., *102*, 587, 1963.
21. *Seifter S., Harkness D. M., Rubin L. and Mantwylar E. J.* Biol. Chem., *176*, 1371, 1948.

К ВОПРОСУ О ВЛИЯНИИ МАГНИТНЫХ ПОЛЕЙ
НА РЕАКЦИЮ ОСЕДАНИЯ ЭРИТРОЦИТОВВ. А. ВАРДАНЯН, Ю. А. РАПЯН, А. К. ДЖИНГОЗЯН,
Г. А. ТОНОЯН, Н. В. АСРЯН, М. А. ПЛУЗЯН

Показано, что эритроциты обладают собственными магнитными моментами. На основании результатов опыта оценено значение магнитного момента отдельного эритроцита.

В литературе, посвященной влиянию магнитного поля на красную кровь, иногда делаются косвенные указания на наличие у эритроцитов магнитных свойств [6, 2]. В одной из ранних работ [1] нами было выдвинуто предположение, что кровь является ферромагнитной жидкостью и что эритроциты являются «доменами», обладающими собственными магнитными моментами. Хотя это предположение имеет довольно весомые предпосылки [1], оно должно быть проверено опытным путем.

Первые опыты по определению РОЭ в магнитном поле были приняты Могендовичем [4]. Подобные опыты ставились и в дальнейшем [3, 5]. Однако в них использовалось или однородное поле или же магнитное с таким малым градиентом, что зачастую влияние алиментарных факторов маскировало действие самого магнитного поля.

С целью окончательного решения этого вопроса мы поставили опыт, суть которого сводится к следующему.

На эритроцит с предполагаемым магнитным моментом μ , помещенный в неоднородное магнитное поле, будет действовать пондермоторная сила

$$F = \mu \text{grad } B. \quad (1)$$

Вследствие действия такой силы неоднородное магнитное поле будет оказывать на эритроциты всасывающее воздействие: они будут притягиваться в сторону сильного поля. Если градиент магнитного поля направлен в сторону или против движения эритроцитов под действием силы тяжести, то в первом случае они будут оседать быстрее, а во втором — медленнее, по сравнению со скоростью оседания в отсутствие магнитного поля.

Таким образом, суть сводится к определению РОЭ в неоднородном магнитном поле. Об эффективности влияния магнитного поля и, следовательно, о величине магнитного момента эритроцита можно судить

сравнивая значения скоростей оседания эритроцитов в присутствии магнитного поля и без него.

Материал и методика. В наших опытах использовалось неоднородное магнитное поле (НМП), которое образовалось между полюсами постоянного магнита. Неоднородность создавалась специальными наконечниками на полюсах постоянного магнита. Минимальное и максимальное значения напряженности, измеряемые милливеберметром М-119, соответственно равны 150 и 400 Э. Расстояние между полюсами—17,5 см. Согласно этим данным, средний градиент поля составляет 14,5 Э/см.

Для работы удобным оказался наконечник М-образной формы, уменьшающий напряженность у того полюса, к которому он приставлен. Таким образом, создавался градиент напряженности магнитного поля в одном случае в сторону, а в другом — против направления движения эритроцитов под действием силы тяжести.

Трубки Панченкова (3 трубки) с кровью помещались одновременно в магнитное поле и вне его (контроль).

Каждый час определялся уровень опускания эритроцитов. Ниже приведены типичные для этих опытов таблицы, в каждой из них даны усредненные результаты десяти произвольно выбранных опытов, за первый час после начала опыта, а также усредненные данные за сутки.

Результаты и обсуждение. Первая серия опытов проводилась в 1972—74 гг. с консервированной кровью различных групп, неразбавленной и разбавленной в разных вариантах. Эта серия опытов не выявила стабильной закономерности (табл. 1).

Таблица 1

Скорость оседания эритроцитов консервированной крови в магнитном поле и в отсутствие поля, мм/час

Скорость оседания	Номер опыта									
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10

Через час после начала опыта

Контроль	6	12	3,5	1,5	10	1,5	5,5	7	3	11
В магнитном поле	10	7,5	3,5	2	6	2,5	7,5	3	3,5	4

Через сутки

Контроль	7	6	1,5	2	6	2,5	2	3	9	6
В магнитном поле	10	3,5	2,5	3	4	4,5	2,5	3	3,5	6

В 1974—1975 гг. нами была проведена вторая серия опытов со свежей кровью кролика, когда градиент напряженности магнитного поля был направлен вдоль (табл. 2) и против (табл. 3) направления движения эритроцитов под действием силы тяжести.

Как видно из табл. 2 и 3, неоднородное магнитное поле оказывает заметное влияние на РОЭ крови. Когда оно усиливается вверх по вертикали, РОЭ замедляется, т. е. эритроциты оседают медленнее по сравнению с контролем. Когда же усиливается вниз по вертикали, происходит обратное. Это означает, что эритроциты в магнитном поле ведут себя как магнитные диполи. А это прямо указывает на то, что они обладают магнитными моментами.

Скорость оседания эритроцитов свежей крови, когда градиент напряженности магнитного поля совпадает с направлением движения эритроцитов и в отсутствие поля, мм/час

Скорость оседания	Номер опыта									
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
Через час после начала опыта										
Контроль	1,5	1	1	1	1,5	1,5	1	1,5	1	1
В магнитном поле	2	2	2	2	2,5	3	2	2,5	2	2
Через сутки										
Контроль	2,5	2,5	2	2	2,5	2,5	2	2,5	3	3
В магнитном поле	4,5	4,5	4,5	4	6	6	3,5	4,5	5	5

Таблица 3

Скорость оседания эритроцитов свежей крови, когда градиент напряженности магнитного поля направлен против движения эритроцитов и в отсутствие поля, мм/час

Скорость оседания	Номер опыта									
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
Через час после начала опыта										
Контроль	3	1	1	1,5	2	2	1,5	2,5	3	2
В магнитном поле	1,5	1	1	1	2	1,5	1	2	2	2
Через сутки										
Контроль	3,5	2,5	2,5	3	2,5	3	1,5	4	3	3
В магнитном поле	3	1,5	1,5	1,5	2	1,5	1	2,5	1,5	1,5

На упрощенной модели можно оценить величину собственного магнитного момента эритроцита. В первом приближении, приписывая эритроцитам шаровую форму, лобовое сопротивление можно определить по формуле Стокса. Учитывая также независимость Архимедовой силы и силы притяжения Земли от магнитного поля, можно записать:

$$6\pi\eta R_0(v_m - v_0) = \mu \frac{dH}{dx} \quad (2)$$

где v_m и v_0 — скорости оседания эритроцитов в присутствии магнитного поля и без него, соответственно, R_0 — радиус сферы, имеющей объем, равный объему эритроцита, η — вязкость среды (плазмы крови).

По известному градиенту поля и магнитному моменту можно вычислить разность скоростей оседания $\Delta v = v_m - v_0$ и, наоборот, по известному градиенту и разности скоростей можно определить магнитный момент отдельного эритроцита, μ . Разность скоростей, по данным наших опытов, в среднем равна одному миллиметру в час, что составляет примерно $2,8 \cdot 10^{-5}$ см/сек. Принимая объем эритроцита равным 100 мк^3 ,

мы получаем для R_0 значение 3 мк. Считая далее вязкость плазмы равной вязкости крови $\tau = 5 \cdot 10^{-2}$ пуаз, а градиент поля равным 15 Э/см, мы получаем на основании формулы (2) следующее значение для магнитного момента отдельного эритроцита:

$$\mu = 5 \cdot 10^{-10} \frac{3r\Gamma}{\Theta} = 5 \cdot 10^{11} \text{ маг. Бора.}$$

По всей вероятности, наряду с другими характеристиками крови магнитные моменты эритроцитов также находятся в функциональной зависимости от патологических изменений организма. Очень важным является заключение о том, что при консервации также происходят изменения магнитных свойств эритроцитов, глубина которых зависит от степени и условий консервации.

Ереванский медицинский институт

Поступило 30. X. 1978 г.

**ԷՐԻՏՐՈՑԻՏՆԵՐԻ ՆՍՏԵՅՄԱՆ ՌԵԱԿՑԻՍԻ ՎՐԱ
ՄԱԿՆԻՍԱԿԱՆ ԴԱՇՏԻ ԱԶԴԵՑՈՒԹՅԱՆ ՀԱՐՑԻ ՄԱՍԻՆ**

Վ. Հ. ՎԱՐԴԱՆՅԱՆ, Յ. Ա. ՌԱՓՅԱՆ, Ա. Կ. ՃԻՆԳՈՅԱՆ, Գ. Ա. ՏՈՆՈՅԱՆ,
Ն. Վ. ԱՐԵՅԱՆ, Մ. Ա. ՊԼՈՒԶԻԱՆ

Տեսական դատողություններով և փորձնականորեն ապացուցվել է, որ էրիտրոցիտներն օժտված են սեփական մագնիսական մոմենտով: Ընդ որում, էրիտրոցիտների մագնիսական մոմենտը, հավանաբար, ինչպես և արյան մյուս բնութագրերը, գտնվում են կենդանի օրգանիզմի ախտաբանական փոփոխություններից ֆունկցիոնալ կախման մեջ: Արյան կոնսերվացման ժամանակ տեղի է ունենում էրիտրոցիտների մագնիսական հատկությունների փոփոխություն, որի խորությունը կախված է կոնսերվացման աստիճանից և պայմաններից:

Պարզեցված մոդելի և փորձերի արդյունքների հիման վրա գնահատված է առանձին էրիտրոցիտի մագնիսական մոմենտի արժեքը:

**MAGNETIC FIELD INFLUENCE ON ERYTHROCYTE
SETTLING REACTION**

V. H. VARTANIAN, Y. A. RAPIAN, A. K. DJINGOZIAN,
G. A. TONOYAN, N. V. ASRIAN, M. A. PLUZIAN

It has been shown that erythrocytes have their own magnetic moments. On the basis of experimental results the magnetic moment value of individual erythrocytes has been estimated.

Л И Т Е Р А Т У Р А

1. Варданян В. А. Сб. Магнитное поле в медицине. Фрунзе, 1974.
2. Дружинин Л. А. Мат-лы чтения секции физики МОИП, посвященных памяти проф. А. Л. Чижевского, февраль, 1965.
3. Козлова Л. Н., Козлова М. М. Мат-лы I Всесоюзн. симп., М., 1971, с. 52—57.
4. Могендович М. Р., Шестернева О. С. Биологическое и лечебное действие магнитного поля. 61, Молотов, 1948.
5. Музалевская Н. И., Шушков Г. Д. Мат-лы I Всесоюзн. симп., 143—147, М., 1971.
6. Чижевский А. Л. Электрические и магнитные свойства эритроцитов. Киев, 1971.

ОСОБЕННОСТИ И ДИНАМИКА РАЗВИТИЯ ЭРГ ЛЯГУШЕК
В ПОСТМЕТАМОРФОЗНОМ ОНТОГЕНЕЗЕ

В. С. МИРЗОЯН

Приводятся данные о наличии определенной закономерности в развитии ЭРГ в онтогенезе у закавказской и озерной лягушек в постметаморфозном периоде жизни. После этого периода амплитуда волн ЭРГ развивается поэтапно, т. е. вначале у молодых особей b-волна имеет небольшую величину, в дальнейшем, на втором этапе жизни (в среднем возрасте), она достигает максимума, а затем несколько снижается и остается на этом уровне. В ходе становления ЭРГ с возрастанием амплитуды b-волны наблюдается одновременное уменьшение a-волны, и наоборот, уменьшение амплитуды b-волны сопровождается повышением a-волны.

Изучению становления электроретинограммы (ЭРГ) головастиков в онтогенезе посвящен ряд работ [10—12], в которых обстоятельно исследовано развитие ретинальных функций. Доказано образование пигментного эпителия нейтральной сетчатки на раннем этапе развития головастиков [10—12, 14, 15].

Сопоставлением данных о развитии структуры сетчатки глаза и становлении ЭРГ в онтогенезе у головастиков при разных температурах и кормовых условиях [10, 11] получена первая электроретинограмма у 5-дневного (34-я стадия) головастика в виде монофазного положительного потенциала. На этой стадии, согласно гистологическим данным, в сетчатке начинается дифференцировка слоев и зрительных клеток [18]. На 7-й день (36-я стадия) исчезает медленный потенциал и появляется a-волна ЭРГ с небольшой амплитудой и с большим латентным периодом. Интересно отметить, что на 8-й день (39-я стадия) с увеличением амплитуды латентный период ее уменьшается. В это время появляется также a-волна ЭРГ. По гистологическим данным [18], слой сетчатки утолщается, завершается дифференцировка зрительных элементов; в палочках исчезают вакуоли, наружный сегмент колбочек приобретает коническую форму; ядра палочек и колбочек занимают дефинитивное положение. Ядра палочек находятся под наружной пограничной мембраной, а ядра колбочек—глубже. Делается заключение, что на 42-й и 47-й стадиях развития головастиков ЭРГ окончательно принимает характерный для нее вид — дифференциация структур сетчатки завершается.

Материал и методика. С учетом этих данных для наших исследований были избраны головастики, превращающиеся в лягушат, т. е. наземных. На этой стадии (70—80-й день после вылупления головастиков в зависимости от климатических условий) хвост головастика исчезает.

Опыты ставились на 100 закавказских (*Rana caucasiensis* Beger) и 200 озерных лягушках (*Rana ridibunda pallas*). Они были разделены в основном на 3 возрастные группы. Поскольку отсутствует способ точного определения возраста лягушек, нами был использован метод, основанный на измерении длины тела.

Первая группа — 99 молодых лягушат, вес и размер которых варьировал в пределах 5—25 г, среди них были такие, у которых еще сохранились следы хвоста. Лягушата этого возраста имеют форму, схожую с формой тела взрослых, хорошо оформленные передние и задние конечности. Эта стадия, по Терентьеву [13], называется стадией молодого [juvenis] лягушонка без хвоста («сеголетка»).

Вторая группа — 102 лягушонка в основном среднего возраста — от 40 до 60 г.

Третья группа—99 взрослых лягушек, длина тела которых варьировала в пределах 60—160 мм, а масса—50—150 г.

Результаты и обсуждение. Первая серия опытов была поставлена на молодых нормальных лягушатах. Электроретинограммы получены при световом раздражении сетчатки разной интенсивности в условиях темновой и световой (на фоне постоянного освещения 100 люкс) адаптации глаза.

У этих животных отмечалась хорошо выраженная ЭРГ со всеми компонентами ЭРГ взрослых особей: а-волна, в виде отрицательной фазы, выражена четко, имеет величину 120 мкв с продолжительностью 50 мсек, латентный период составляет 30 мсек. Затем она медленно переходит в положительную в-волну с амплитудой 390—400 мкв и длительностью 168 мсек. Далее эта волна переходит во вторую отрицательную фазу, имеющую величину 100 мкв, длительность — 670 мсек. Затем возникает положительная с-волна, имеющая величину 40 мкв и продолжительность 1 сек. Выключение света приводит к возникновению положительной d-волны. При интенсивности светового раздражения 1,4 дж с длительностью 350 мсек, d-волна отсутствует. Лабильность сетчатки при интенсивности света в 0,135 дж в условиях темновой адаптации достигает 12—18 гц, а при световой—10—16 гц.

При раздражении глаза светом интенсивностью 0,45 дж возникает ЭРГ с латенцией 30 мсек. Величина а-волны при этом равна 100 мкв, а длительность 31 мсек. Волна b, по-видимому, протекает быстрее и быстрее переходит к отрицательной фазе. Ее амплитуда достигает 320 мкв, а продолжительность—166 мсек. Волна-с уменьшается и при интенсивности света 0,135 дж почти исчезает.

Величина и длительность а-, b- и с-волн в условиях темновой и световой адаптации при различных интенсивностях светового раздражения приведены в таблице.

В условиях световой адаптации ЭРГ носит более быстротечный характер. Величина в-волны при интенсивности в 1,4 дж имеет острый пик. Латентный период ЭРГ при этом составляет 30 мсек. Величина а-волны составляет 60 мкв с длительностью 30 мсек, а b-волны—соответственно 340 мкв и 166 мсек. Волны-с и -d отсутствуют.

При интенсивности света 0,45 дж латентный период ЭРГ составляет 42 мсек, а-волна уменьшается до 40 мкв, а длительность до 32 мсек. Волна b, с заостренной верхушкой, имеет величину 300 мкв, длитель-

ность—150 мсек. Отсутствуют с- и d-волны. Лабильность в условиях световой адаптации составляет при этом 16 гц.

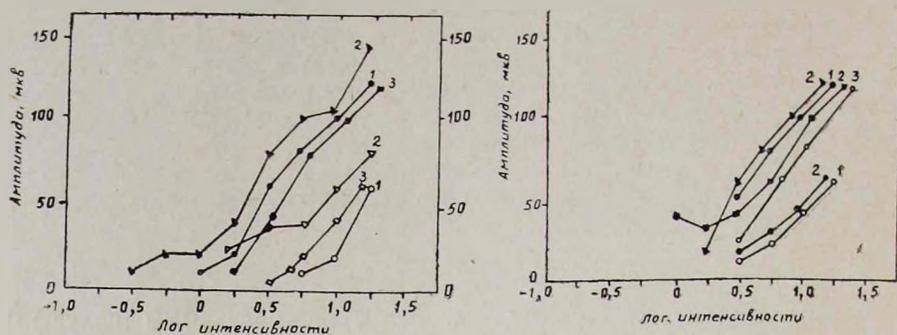


Рис. 1. Изменение величины а-волны ЭРГ в условиях темновой (черный) и световой (светлый) адаптации при разных интенсивностях фотостимуляции у озерных (А) и закавказских (Б) лягушек разных возрастов: 1 — молодых, 2 — средних и 3 — взрослых

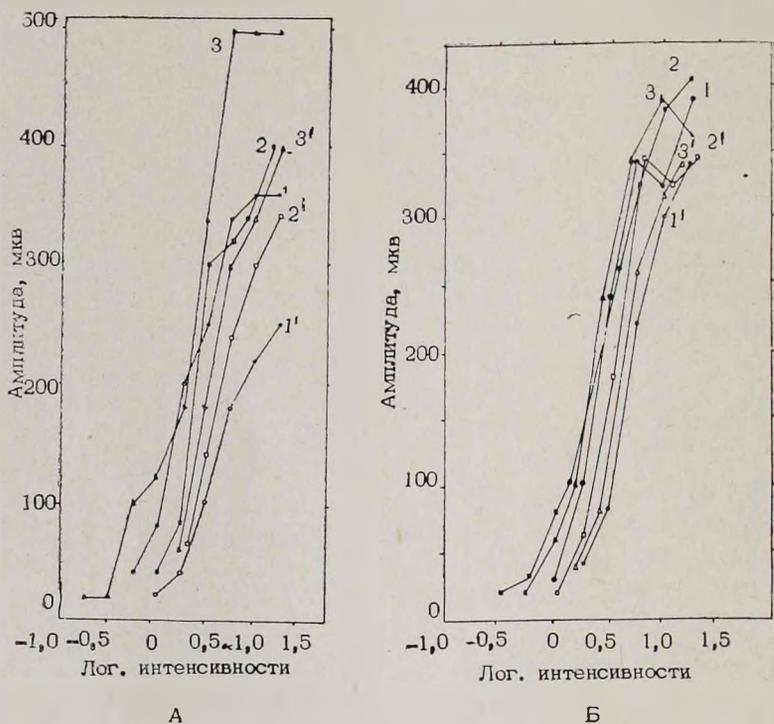


Рис. 2. Изменение амплитуд b-волны в ЭРГ озерных (А) и закавказских (Б) лягушек разного возраста: 1 — молодые, 2 — средние, 3 — взрослые, в условиях темновой (черный) и световой (светлый) адаптации при разных интенсивностях фотостимуляции.

Примерно такая же картина получена у озерных лягушат. Разница лишь в том, что в условиях темновой адаптации, при интенсивностях

света 0,045 и 0,023 дж, ЭРГ имеет выраженную b-волну. В условиях световой адаптации ЭРГ отмечается лишь при интенсивности света 0,045 дж и более. Лабильность при темновой адаптации составляет 24, а при световой—28 гц.

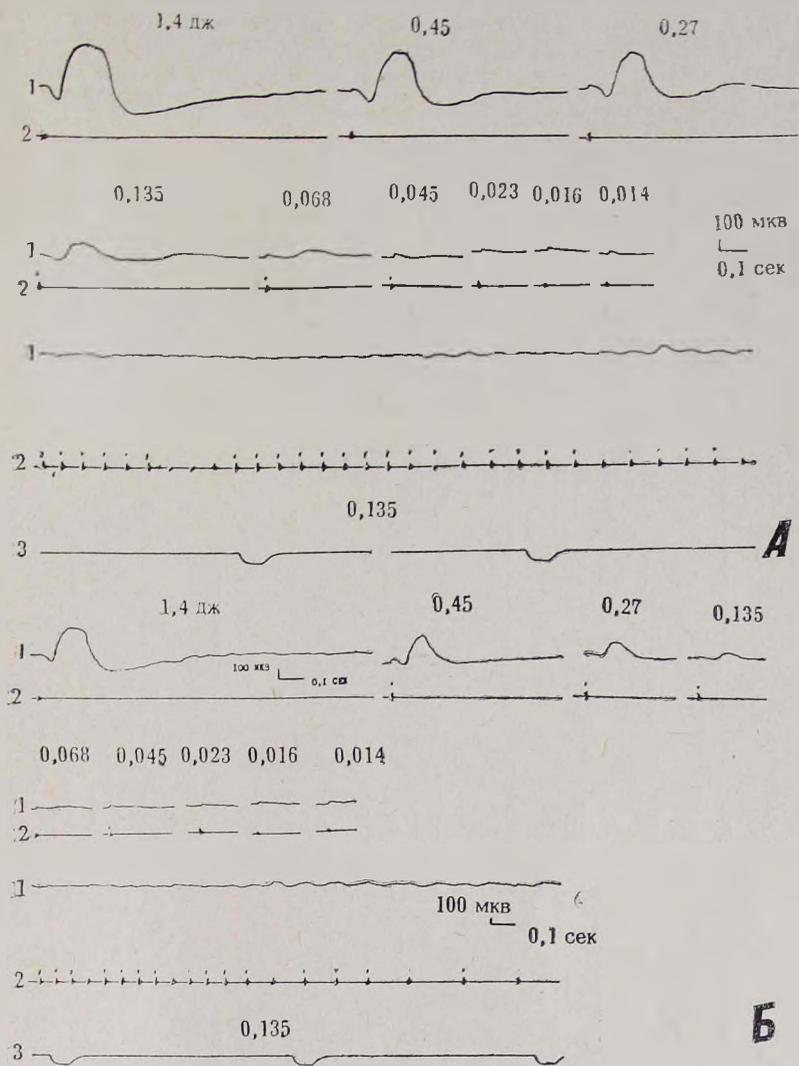


Рис. 3. ЭРГ среднего возраста закавказской лягушки в условиях темновой (А) и световой (Б) адаптации при различных интенсивностях и частотах фотостимуляции (10—14 и 6—15 гц при 0,135 дж).

Величины b-волны ЭРГ у молодых лягушат обоих видов в различных условиях адаптации в виде гистограммы показаны на рис. 2. В таблице приводятся цифровые данные — амплитудные значения и временные параметры компонентов ЭРГ молодых лягушек при разных ин-

тенсивностях светового раздражения темно- и светлоадаптированного глаза (таблица).

Таблица

Величины (мкв) и длительность (мсек) а-, б- и с-волн ЭРГ в условиях темновой и световой адаптации при различных интенсивностях светового раздражения

Интенсивность света, джоули	Темновая						Световая					
	волны ЭРГ											
	а		б		с		а		б		с	
	величина	длительность	величина	длительность	величина	длительность	величина	длительность	величина	длительность	величина	длительность
Лягушка № 45 (молодая) Размер—35 мм Масса—8 г												
1,4	120	50	390	168	40	1000	60	30	340	166	—	—
0,45	100	31	320	166	35	900	40	32	300	150	—	—
0,27	80	30	340	125	30	500	20	32	220	125	—	—
0,135	51	41	240	125	20	400	10	32	80	125	—	—
0,068	—	—	100	165	10	200	—	—	40	83	—	—
0,045	—	—	30	166	—	—	—	—	—	—	—	—
0,023	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
0,016	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
0,014	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
Лягушка № 55 (средний возраст) Размер—80 мм Масса—75 г												
1,4	60	42	420	330	40	990	120	32	340	166	40	100
0,45	60	42	340	290	20	600	40	36	300	160	20	100
0,27	40	42	320	290	20	400	30	36	210	160	10	50
0,135	30	32	300	320	20	200	20	36	140	140	—	—
0,068	20	16	80	208	10	—	10	36	60	83	—	—
0,045	—	—	40	166	10	—	—	—	—	—	—	—
0,023	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
0,016	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
0,014	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
Лягушка № 285 (взрослая) Размер—75 мм Масса—69 г												
1,4	120	42	420	250	40	660	120	36	340	208	20	580
0,45	100	50	380	208	20	600	300	32	320	125	20	360
0,27	60	42	320	200	20	500	60	42	340	166	—	—
0,135	40	30	260	166	10	166	30	30	180	166	—	—
0,068	30	40	100	166	—	—	—	—	60	125	—	—
0,045	40	42	80	250	—	—	—	—	20	83	—	—
0,023	—	—	30	125	—	—	—	—	—	—	—	—
0,016	—	—	20	180	—	—	—	—	—	—	—	—
0,014	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—

Вторая серия опытов проводилась на лягушках среднего возраста. У этих животных ЭРГ полностью дифференцирована и состоит из трех компонентов. В условиях темновой адаптации, при стимуляции глаза светом разной интенсивности, возникает хорошо выраженная б-волна с двумя фазами. При интенсивности светового раздражения в 1,4 дж ла-

тентный период ЭРГ достигает 29—31 мсек, а-волна выражена хорошо, величина ее амплитуды достигает 60—140 мкв, длительность—42 мсек. Волна b ЭРГ достигает больших величин (400—500 мкв), в положительной фазе. Через 190—270 мсек она переходит во 2-ю, отрицательную, фазу, с амплитудой в 200 мкв и длительностью 250 мсек. затем появляется с-волна, величиной 20—40 мкв и длительностью 800—1000 мсек. Волна d в ЭРГ не отмечается.

При интенсивности света в 0,45 дж у озерных лягушек выявляется картина, аналогичная обнаруженной у закавказских лягушек.

У обоих видов лягушек в ЭРГ возникают четко выраженные компоненты: а-волна имеет дугообразную форму, с амплитудой, равной 120—160 мкв, продолжительностью 42 мсек, амплитуда b-волны имеет величину 260—500 мкв, продолжительность 160—250 мсек; с-волна имеет меньшую амплитуду (20 мкв), ее продолжительность равна 100—160 мсек; с-волна при раздражении светом 0,27 дж становится еще меньше и начиная с 0,135 дж и ниже полностью отсутствует.

С уменьшением интенсивности светового стимула волны ЭРГ постепенно уменьшаются: а-волна исчезает при интенсивности 0,023 дж, а b-волна сохраняется даже при самом слабом световом раздражении—0,014 дж.

Картина ЭРГ в условиях темновой адаптации у лягушек средних возрастов приведена на рис. 3. Лабильность темноадаптированной сетчатки животных этого возраста составляет 20—24 гц (рис. 3, внизу). В условиях световой адаптации при интенсивности светового раздражения в 1,4 дж ЭРГ также выражена хорошо, однако она носит более компактный характер, в том отношении, что процесс протекает быстрее, чем при темновой адаптации, хотя ее амплитуда уменьшается. При этом а-волна имеет амплитуду 60—120 мкв и продолжительность 30—60 мсек, ее величина постепенно уменьшается параллельно уменьшению интенсивности света. Интересно отметить, что при интенсивности света в 0,068 дж (на фоне постоянного освещения) у обоих видов лягушек ЭРГ отсутствует. При этих же условиях лабильность сетчатки достигает 16—20 гц (рис. 3 и таблица).

В третьей серии опытов. У обоих видов взрослых лягушек ЭРГ в условиях темновой адаптации имела такую же форму (с хорошо выраженными компонентами), какую мы наблюдали в первой и второй сериях опытов. Однако компоненты ее протекают медленнее, чем у животных среднего возраста, и имеют большую амплитуду. Латентный период ЭРГ в среднем составляет 29—35 мсек. Величина а-волны достигает 60—120 мкв, а продолжительность—40—50 мсек. Что касается b-волны, то ее величина достигает 300—420 мкв, а продолжительность—200—250 мсек. Отрицательная фаза b-волны имеет величину 120 мкв, продолжительность—500 мсек.

Форма и величина компонентов ЭРГ уменьшается с уменьшением интенсивности света. При стимулах 0,016 дж и ниже ЭРГ отсутствует. Лабильность составляет 20—24 гц.

В условиях световой адаптации а-волна у взрослых лягушек становится более резкой и имеет заостренную верхушку, с амплитудой 60—120 мкв и продолжительностью 36—42 мсек; с уменьшением интенсивности света она постепенно уменьшается и при 0,135 дж почти полностью исчезает.

Волна б при интенсивности света 1,4 дж 2-фазная, с амплитудой 340 мкв и длительностью 160—200 мсек. Двухфазность сохраняется и при интенсивности света 0,45 дж, а при 0,27 дж она имеет только положительную фазу. При интенсивности освещения 0,023, 0,016 и 0,014 дж ЭРГ отсутствует (таблица). Лабильность при этом режиме света составляет 24 гц.

Результаты трех серий опытов, проведенных в возрастном аспекте, показывают, что а-волна ЭРГ обнаруживается при интенсивности стимулов в интервале 1,4—0,135 дж, при более низких интенсивностях света она отсутствует. У темноадаптированных животных среднего возраста отмечается умеренная выраженность компонентов ЭРГ при всех интенсивностях света. Однако в условиях светового режима величина компонентов ЭРГ наибольшая в молодом и среднем возрасте.

Результаты измерения а-волны ЭРГ лягушек разных возрастов в условиях темноты и света (при постепенном повышении светового стимула) показывают, что у обоих видов и разных возрастов животных ответы сетчатки увеличиваются параллельно увеличению интенсивности света. Однако у лягушек среднего возраста имеется предел усвоения стимулов, отмечающийся при интенсивности света 0,068 дж, а у остальных возрастов ответная реакция не наблюдается (рис. 1).

Как видно из рис. 1, б-волна закономерно увеличивается с увеличением интенсивности света, но при более сильном раздражении (1,4 дж), в особенности у животных среднего и зрелого возраста, в условиях темновой адаптации она уменьшается. Вероятно, сильный раздражитель является тормозящим фактором для функции сетчатки (рис. 2).

У лягушек всех возрастов и обоих видов латентный период ответа при интенсивности света 1,4 дж малозменчив, изменения происходят в пределах 2—6 мсек как в условиях темновой, так и световой адаптации глаза.

Анализируя полученные данные, можно отметить, что а-волна ЭРГ в условиях темновой адаптации в среднем у молодых животных имеет сравнительно большую амплитуду, чем у средних, и меньшую, чем у взрослых (рис. 4). Однако при световой адаптации у молодых она меньше, чем у животных среднего возраста, у взрослых она больше; продолжительность варьирует в незначительных пределах (рис. 4).

Из всех компонентов ЭРГ наибольший интерес представляют закономерности развития б-волны в онтогенезе. Амплитуда ее с возрастом увеличивается, в среднем возрасте достигая максимальной величины. У взрослых она снижается, почти приближаясь к максимуму у молодых и носит стабильный характер. Уменьшается также ее продолжительность. Видимо, это объясняется более быстрым протеканием нервных

процессов, связанных с возрастом, снабжающих зрительный центр информацией, необходимой для более быстрого приспособления к новым факторам внешней среды. Так, у молодых животных *b*-волна имеет амплитуду 365—410 мкв и длительность 148—157 мсек, тогда как у лягушек среднего возраста эти показатели составляют 425—465 мкв и 350—

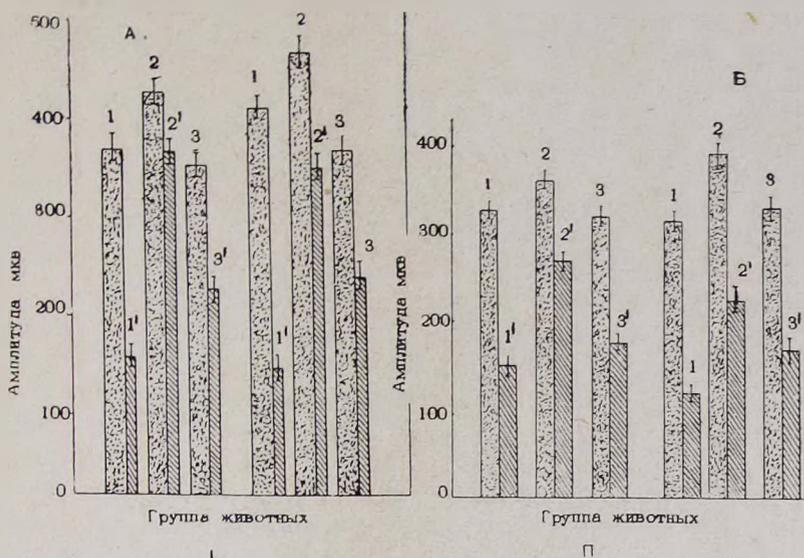


Рис. 4. Амплитуда и длительность *b*-волны в ЭРГ лягушки в условиях темновой (I) и световой (II) адаптации при 1,4 дж светового раздражения. А — закавказские, Б — озерные. Величина: 1 — молодые, 2 — средние и 3 — взрослые. Длительность: 1¹ — молодые, 2¹ — средние и 3¹ — взрослые.

365 мсек, а у взрослых животных — 380—400 мкв и 228—238 мсек соответственно. Как видно из этих данных, у молодых и взрослых животных амплитуда и длительность этой волны почти одинаковы как в условиях световой (рис. 4), так и темновой адаптации.

Волна *c* в большинстве случаев появляется при сильных световых раздражениях и имеет дугобразную форму с амплитудой 25—50 мкв и продолжительностью 8—15 мсек. Интересно, что у озерных лягушек с развитием животного *c*-волна постепенно увеличивается, а у закавказских видов — наоборот. Однако продолжительность ее у молодых меньше, чем у средних, а у взрослых она также уменьшается, как и *b*-волна.

Кроме возрастных особенностей отмечаются также индивидуальные. Так, иногда у молодых особей величина *a*-волны или *b* — больше, чем у взрослых. Однако вариационно-статистические достоверные усредненные данные свидетельствуют о том, что закономерности развития и становления электрических процессов, протекающих в сетчатке, могут быть показателями, определяющими возраст.

Анализируя данные, можно заключить, что амплитуда *b*-волны на-

растает поэтапно. На начальном этапе она имеет определенную величину амплитуды, а затем вновь постепенно увеличивается, в дальнейшем несколько уменьшается, достигая прежнего уровня. Аналогичная картина имеет место в условиях световой адаптации.

Таким образом, с возрастом животного наблюдается увеличение амплитуды b-волны и ее длительности, а в дальнейшем у взрослых лягушек имеет место уменьшение амплитуды и длительности этой волны. Как видно, для более интенсивного процесса требуется также большее время.

Такая стадийность напоминает процесс возникновения, развития и формирования компонентов ЭРГ в онтогенезе у других видов животных [3, 4, 6]. Интересно, что в наших других опытах [1, 5, 8] с целью выяснения этапности развития и совершенствования различных уровней зрительной системы, от сетчатки до мозга, мы пытались создать модель угнетения биоэлектрической активности этих структур путем постепенного их лишения кровоснабжения и отравления нейротропным ядом гранозаном. Были изучены закономерности как угнетения и исчезновения биопотенциалов (ЭРГ и ЭЭГ), так и их восстановления в условиях постепенной нормализации кровоснабжения сетчатки и по ходу лечения гранозановой интоксикации [1, 2, 8, 9]. При изучении характера влияния общей и местной острой анемизации сетчатки на зрительную функцию голубя [5, 7, 8] были обнаружены явления функционального регресса. Показано, что постепенное выпадение функций сетчатки при кровопотере происходит поэтапно: вначале, в первые же секунды анемизации, происходит активация биопотенциалов и общее возбуждение ц. н. с., затем — выравнивание a- и b-волн ЭРГ, а в дальнейшем их полное исчезновение. Такая стадийность аналогична процессу возникновения и развития компонентов ЭРГ в онтогенезе. Однако следует отметить, что при этом процессы восстановления идут в два раза медленнее, чем процессы угнетения. Фактически закономерность поэтапного развития ЭРГ в онтогенезе повторяется и при восстановлении нарушенных зрительных функций, вызванных хирургическими и химическими средствами.

Институт физиологии им. Л. А. Орбели
АН АрмССР

Поступило 11. XII 1978 г.

**ԳՈՐՏԻ ԱԶՔԻ ԷԼԵԿՏՐՈՅԱՆՑԱՆՑՈՒԹՅԱՆ ԶԱՐԳԱՅՄԱՆ ԱՌԱՆՁՆԱՀԱՏ-
ԿՈՒԹՅՈՒՆՆԵՐՆ ՈՒ ԴԻՆԱՄԻԿԱՆ ԵՏՄԵՏԱՄՈՐՅՈՋԱՅԻՆ
ՇՐՋԱՆԻ ՕՆՏՈԳԵՆԵԶՈՒՄ**

Վ. Ս. ՄԻՐՁՈՅԱՆ

Կովկասյան ու լճային գորտերի եամետամորֆոզային շրջանի օնտոգենեզում բացահայտվել է էլեկտրացանցագրային (էՑԳ) զարգացման որոշակի օրինաչափություն: էՑԳ ակտիվները հասակի զարգացմանը զուգահեռ աստիճանաբար աճում են, ըստ որում Ե-ակտիվը փոքր հասակի գորտերի մոտ մթային աղապտացիայի պայմանում ունի 290 մկվ մեծություն, միջին հասակում

աստիճանաբար մեծանալով հասնում է 450 մկվ, իսկ հետագայում մեծահասակների սոտ փոքր-ինչ իջնելով հասնում է 350 մկվ և երկար ժամանակ մնում այդ մակարդակի վրա: Նման պատկեր ստացվում է նաև լույսային ազապտացիայի պայմանում: Հակառակ արդյունք ստացվում է *a*-ալիբի զարգացման ընթացքում:

Այսպիսով, *b*-ալիբի մեծացման դեպքում ցածր է *a*-ալիբը և ընդհակառակը *a*-ալիբի մեծացման դեպքում ցածր է մնում *b*-ալիբը: Այսպիսի ֆունկցիոնալ փոխհարաբերությունը վկայում է այն մասին, որ աչքի ցանցաթաղանթում ցուպիկաձև բջիջների ինտենսիվ զարգացման ընթացքում դավաթաձև բջիջները մնում են անփոփոխ (միջին հասակում), իսկ երբ հասունների մոտ աճում է դավաթաձև բջիջների ապարատը, ապա ցուպիկաձև բջիջների ապարատը մնում է անփոփոխ՝ այսինքը զտնվում է «արգելակման» վիճակում: Հնարավոր է, որ այս երևույթը կապված է ցանցաթաղանթի մետաբոլիզմի զարգացման առանձնահատկությունների հետ:

PECULIARITIES AND DYNAMICS OF FROG ERG DEVELOPMENT AT POST-METAMORPHOSE ONTOGENESIS

V. S. MIRZOYAN

Some data have been obtained revealing regularities of ERG development of frogs at their post-metamorphose period of life. ERG wave amplitude at mentioned period develops by stages: It increases at the beginning, reaches maximum at middle age and somewhat decreases afterwards. *a*-wave amplitude changes in opposite way — it decreases at the beginning and increases later.

Л И Т Е Р А Т У Р А

1. Авакян Н. М., Мирзоян В. С., Григорян Р. Б. Судебная медицина и реаниматология, 319—322, Казань, 1969.
2. Гэгзян М. Д., Григорян Р. Б. Сб. Бюро Главной судебно-медицинской экспертизы, 174—178, Ереван, 1971.
3. Мирзоян В. С., Григорян Р. Б. Биолог. ж. Армении, 22, 2, 56—64, 1969.
4. Мирзоян В. С., Мат-лы X научн. конф. физиологов пед. ВУЗов респ. Закавказья, 253—254, Ереван, 1967.
5. Мирзоян В. С., Григорян Р. Б., Акопян С. А. Мат-лы Первого съезда физиологов Армении, 71, Ереван, 1970.
6. Мирзоян В. С. Мат-лы I-го съезда физиологов Армении, 227—235, Ереван, 1970.
7. Мирзоян В. С., Акопян С. А. Тез. докл. 4-й научн. сессии, 173—177, Кировакан, 1976.
8. Мирзоян В. С., Акопян С. А., Гюлзадян В. С. Тез. докл. 4-й научн. сессии, 171—173, Кировакан, 1976.
9. Мушегян Г. П., Мирзоян В. С., Акопян С. А. Биолог. ж. Армении, 24, 5, 61—68, 1971.
10. Оганесян Р. О., Попов В. В., Мочалова П. И. Научн. докл. высшей школы, сер. биол. наук, 11, 50, 1968.
11. Оганесян Р. О. Автореф. канд. дисс., М., 1969.
12. Попов В. В. ДАН СССР, 131, 5, 1960.
13. Терентьев П. В. Пягушки. М., 1950.

14. *Gaze R. M.* Quarterly Journal of Experimental Physiology, *44*, 290—308, Edinburgh, London, 1959.
15. *Gaze R. M.* International Review of Neurobiology, *2*, 1—40. New York, London, 1960.
16. *Lettvin J. Y. et al.* Sensory Communication, W. Rosenblith (Ed). Cambridge, M. I. T. Press, 757—776, 1961.
17. *Maturana H. R., Lettvin J. Y., McCulloch W. S., Pitts W. S.* Bull. Math. Biophysic, *9*, 127—147, 1947. J. Gen. Physiol, *43*, 129—175, 1960.
18. *Saxen L.* Ann. Acad. Sci. Fenn. Ser. A., *4*, Biol., 23, 1934.

РЕГУЛЯЦИЯ ПРОЛИНОКСИДАЗЫ У *SACCHAROMYCES VINI*

Э. А. МАНТАШЯН

Дрожжи вида *Sacch. vini* способны окислять пролин в условиях экспоненциально выращенной культуры на синтетической среде с пролином в качестве единственного источника азота. Результаты, касающиеся явления индукции, получены при изучении хода индуцируемого синтеза пролиноксидазы во времени, концентрации субстрата, влияния глюкозы и попов аммония.

Изучение азотного метаболизма у *Saccharomyces vini* показало, что эти дрожжи могут использовать в качестве единственных источников азота ряд аминокислот, в частности семейства глутаминовой кислоты. Обменные пути, по которым происходит превращение той или иной аминокислоты этого семейства, ведут к глутаминовой кислоте, являющейся ключевым азотным донором.

При утилизации дрожжами пролина и аргинина образование промежуточного продукта, пирролин-5-карбоксилата, возможно не только при окислении пролина, но и при трансаминировании орнитина [9]. Дальнейшее превращение пирролин-5-карбоксилата осуществляется при участии пирролиндегидрогеназы и приводит к образованию глутамата. Экспериментально показано, что пирролиндегидрогеназа, приводящая к образованию глутамата от аргинина (через орнитин) и от пролина, катализируя, по сути дела, одну и ту же реакцию, является тем не менее ферментом, имеющим различную природу [8].

Одинаковые пути деградации пролина свойственны *Salmonella typhimurium*, *Escherichia coli*, *Bacillus subtilis*. Пролиноксидаза, образующая пирролинкарбоновую кислоту, которая превращается в глутамат с участием НАДФ-а и пирролин-5-карбоксилатдегидрогеназы, индуцируется пролином и подвергается катаболитной репрессии. Клетки дикого штамма салмонеллы, росшие в присутствии пролина, обнаруживают заметное увеличение активности ферментов катаболизма пролина. Активность последних значительно уменьшается в присутствии глюкозы [2—4].

Работы Франка и сотр. также отмечают пролиноксидазную систему или ее некоторые компоненты у дикого типа *E. coli* как индуцируемую. Инкубация неадаптированных к пролину клеток в среде, содержащей пролин, приводит к быстрому увеличению пролиноксидазной актив-

ности, которая в существенной степени зависит от концентрации добавляемого пролина [5—7].

В настоящей работе изучались условия, при которых имеет место индукция дрожжевой пролиноксидазы.

Материал и методика. Двухсуточную культуру дрожжей вида *Sacch. vini* расы Кахури-7 выращивали на среде Ридер следующего состава (г/л водопроводной воды): $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ —3,0; $\text{MgSO}_4 \cdot 7 \text{H}_2\text{O}$ —0,7; NaCl —0,5; KH_2PO_4 —1,0; K_2HPO_4 —0,1; глюкоза—2%. Витамины: тиамин, биотин, Са--пантотенат по 50 мкл/100 мл. Начальная величина рН 6,6.

Культивирование велось в аэробных условиях на качалке в колбах Эрленмейера при 25—28°. Экспоненциально выращенные клетки отделяли от культуральной жидкости, дважды промывали холодной водой и ресуспендировали в свежей среде Ридер, содержащей в качестве источника азота пролин в различных концентрациях. Через определенный промежуток времени в тех же условиях дрожжи отделяли, дважды промывали холодной водой, 0,062М калий-фосфатным буфером рН 7,1, ресуспендировали в том же буфере и вводили в реакционную смесь, где активность фермента определяли по убыли пролина по ранее описанной методике [1]. Пролиноксидазную активность выражали в микромолях пролина на 100 мг абс. сух. дрожжей.

Результаты и обсуждение. Индукция пролиноксидазы. Экспоненциально выращенные клетки получали на среде Ридер с сульфатом аммония в качестве единственного источника азота в течение 18 час. и переносили в свежую среду с пролином (0,5 мг/мл) и глюкозой (1%). Промытые клетки исследовали на ферментативную активность. Максимальное образование фермента отмечено за 40 мин. (рис. 1).

Для выявления влияния концентрации пролина на ход индуцируемого синтеза фермента промытые клетки ресуспендировались в свежей среде с указанными на графике 2 концентрациями пролина. Через 60 мин дрожжи отделяли от культуральной жидкости и исследовали на активность. Увеличение активности пролиноксидазы зависит от концентрации добавляемого в ростовую среду пролина и носит линейный характер (рис. 2). Эксперименты, проведенные Франком на *E. coli*, выявили не только такой же характер индуцирования пролиноксидазой

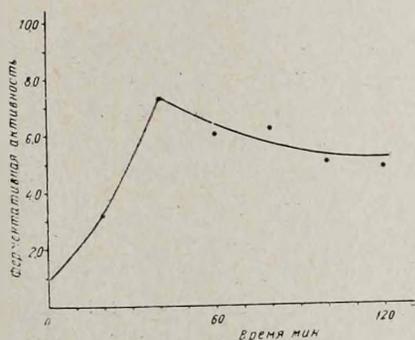


Рис. 1.

Рис. 1. Ход индукции пролиноксидазы во времени.

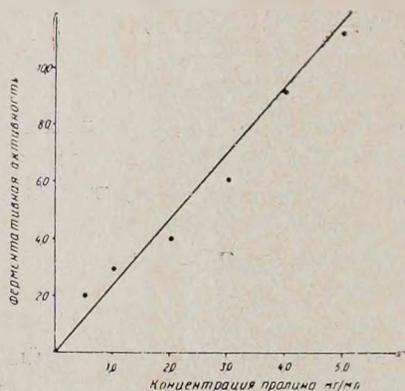


Рис. 2.

Рис. 2. Индукция пролиноксидазы как функция концентрации пролина

системы. но и показали, что исследованные L-аминокислоты [15] окисляли адаптированные к пролину клетки примерно на 20% от наблюдаемой скорости на пролине, а L-изомеры глутамата, серина, треонина, аланина — примерно на половину скорости на пролине [5].

Заметное влияние на степень окисления пролина винными дрожжами оказывают ионы аммония и глюкоза. Необходимость изучения этого вопроса была вызвана, в частности, разноречивыми литературными данными. Доказанным, однако, является тот факт, что синтез пролинокси-

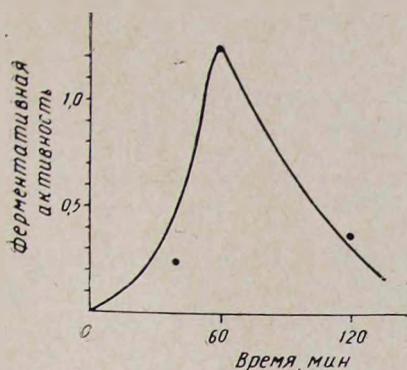


Рис. 3.

Рис. 3. Влияние времени инкубации дрожжей в ростовой среде, не содержащей глюкозу.

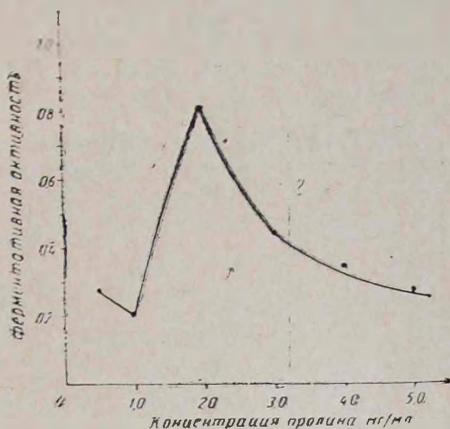


Рис. 4.

Рис. 4. Индуцированный синтез пролиноксидазы в отсутствие глюкозы.

дазы репрессируется аммоний сульфатом в присутствии глюкозы. В среде, содержащей глюкозу и пролин в качестве источника азота, катаболитная репрессия пролиноксидазы *Klebsiella aerogenes* уменьшается [10]. В наших опытах исключение глюкозы или ионов аммония из ростовой среды проводилось после перенесения экспоненциально выросших клеток в свежую среду Ридера.

Концентрация глюкозы—1%; аммония—2,35, пролина—4,1 мг/мл (дозы рассчитаны исходя из потребностей винных дрожжей в азоте на 1 г глюкозы и эквивалентны).

Таблица

Синтез пролиноксидазы дрожжами *Sacch. vini*, мкМ пролина/100 мг абс. сух. др.

Добавки к среде роста		Пролин-оксидаза
пролин	глюкоза	
+	+	2,22
+	+	6,62
+	+	8,31
+	+	11,75
+	+	1,01
+	+	0,85

*—2,0 мг/мл. **—4,1, ***—6,1.

Как видим (рис. 3, 4, таблица), исключение глюкозы из ростовой среды заметно снижает пролиноксидазную активность.

Экспериментальные данные позволяют заключить, что пролиноксидаза — регулируемый фермент и может индуцироваться пролином особенно эффективно в среде с глюкозой. Ионы аммония оказывают тормозящее действие, усиливающееся в отсутствие глюкозы.

Ереванский государственный университет,
проблемная лаборатория сравнительной
эволюционной биохимии

Поступило 2. VII 1979 г.

ՊՐՈԼԻՆՕՔՍԻԴԱԶԱՅԻ ԿԱՐԳԱՎՈՐՈՒՄԸ SACCHAROMYCES VINI ԽՄՈՐԱՍՆԿԵՐԻ ՄՈՏ

Է. Ա. ՄԱՆՏՉԻԱՆ

Saccharomyces vini տեսակի խմորասնկերի էքսպոնենցիալ պայմաններում աճեցրած կուլտուրաները, սինթետիկ միջավայրում ազոտի միակ աղբյուր պրոլինի առկայությամբ, ընդունակ են օքսիդացնել պրոլինը:

Ինդուկցիայի երևույթին վերաբերվող տվյալները ստացված են ուսումնասիրելով՝ պրոլինօքսիդազայի ինդուկցված սինթեզը՝ կախված ժամանակից, սուբստրատի կոնցենտրացիայից, ամոնիումի իոնների և գլյուկոզայի ազդեցությունից:

PROLINOXYDASE REGULATION BY SACCHAROMYCES VINI

E. A. MANTACHIAN

It has been shown that *Sacch. vini* are capable to oxidize proline of a culture exponentially grown on synthetical medium containing proline as the only source of nitrogen. The results concerning the induction phenomenon have been received at the study of: a) the induced prolinoxidase synthesis process b) substrate concentration c) the effect of ammonium ions and glucose.

Л И Т Е Р А Т У Р А

1. Манташян Э. А. Межвуз. сб. науч. тр. «Биология», вып. 1. Ереван, 1979.
2. Condamine H. Annales Institut Pasteur., 120, 9—22, 1971.
3. Dedinge S., Brill W. J. of bacteriology, 103, 1, 144—152, 1970.
4. Deutch Ch. E., Soffer R. L. Proc. Nat. Acad. Sci., USA, 72, 1, 405—408, 1975.
5. Frank L., Rybicki P. Archives of biochemistry and biophysics, 95, 441—449, 1961.
6. Frank L. J. of bacteriology, 86, 4, 781, 1963.
7. Frank L., Rankard B. Archives of Biochemistry and biophysics, 107, 325—331, 1964.
8. Hawer G. De., Lavalle R., Wiame J. M. Biochimica biophysica acta, 81, 257—269, 1964.
9. Meister A Biochemistry of amino acids, New York, 1965.
10. Prival M. J., Magasanik B. J. of biological chemistry, 246, 20, 6268—6296, 1971.

ОБМЕН ВЕЩЕСТВ В ЛИСТЬЯХ НОВЫХ СОРТОВ И ЭЛИТНЫХ ФОРМ ВИНОГРАДА В ПРОЦЕССЕ ИНФИЦИРОВАНИЯ МИЛДЬЮ

С. А. МАРУТЯН, А. С. АНТОНЯН, Р. А. АБАДЖЯН, Ж. А. ПЕТРОСЯН,
А. А. МАРГАРЯН, Г. Л. СИХЧЯН, Л. В. КАЗАРЯН, Ж. А. НАГАПЕТЯН

При инфекции в листьях милдью-морозоустойчивых гибридов значительно уменьшается количество аминокислот, сахарозы, возрастает содержание полифенолов, индуцируется активность полифенолоксидазы. У неустойчивых гибридов изменения носят в основном противоположный характер.

В последние годы вопросы, связанные с интенсификацией селекционного процесса по выведению комплексоустойчивых сортов винограда, сочетающих высококачественность, высокоурожайность с устойчивостью к морозам и болезням, приобретает первостепенное значение [5, 9, 10 и др.]. У винограда—многолетнего растения, особенности биохимических процессов в связи с морозоустойчивостью и иммунитетом растений мало изучены [7].

Целью наших исследований было изучение особенностей метаболизма исходных сортов, элитных форм и новых гибридов винограда различных комбинаций в связи с выведением комплексоустойчивых сортов.

В нашу задачу входили также фитопатологическая оценка степени устойчивости новых морозоустойчивых форм винограда к грибковому заболеванию милдью и изучение сдвигов в обмене веществ листьев в процессе инфицирования в полевых условиях.

Материал и методика. Объектом исследования служили здоровые и зараженные листья винограда. Растения выращивали на участке без применения ядохимикатов. В полевых условиях искусственно заражали по 10 кустов с каждого гибрида, в вечерние часы, во второй и третьей декадах июля, опрыскиванием листьев винограда свежей конидиальной суспензией гриба *Plasmopara viticola*. Опрысканные растения укрывали мокрыми полиэтиленовыми пакетами до утра для предотвращения быстрого высыхания инфекционных капель.

При оценке на устойчивость к милдью учитывались: срок проявления болезни, инкубационный период, размер и характер пятен, процент опавших листьев. Конечная оценка давалась по 6-балльной шкале Бубальса, описанной в отечественной литературе Вердеревским и Журавлем [4], позволяющей судить о степени устойчивости по типу реакции растения-хозяина на внедрение в его ткань гриба-паразита при наличии оптимальных условий для развития организмов. У устойчивых форм появляется при этом некрозы тканей, у восприимчивых—хлоротичные пятна с обильными конидиальными спороношениями патогена в конце инкубационного периода развития

гриба. Оценки шкалы следующие (в баллах): 0—иммунные растения, видимых признаков поражения нет; 1—высокоустойчивые растения, точечные некрозы на листьях, слабое спороношение во влажной камере; 2—устойчивые растения, некрозы на листьях достигают 2—5 мм в диаметре, слабое спороношение возможно в условиях открытого грунта при высокой влажности; 3—среднеустойчивые растения, крупные пятна некрозов, спороношение при благоприятной влажности; 4—восприимчивые сорта, хлоротичные пятна, обильное спороношение при благоприятной влажности; 5—сильновосприимчивые растения, крупные хлоротичные пятна, часто сливающиеся, во влажных условиях обильное спороношение, осыпание листьев.

Для анализов брали листья на 5-й день после заражения. В биохимических исследованиях применяли различные микрометоды, модифицированные в нашей лаборатории применительно к виноградному растению. Изучали содержание общего, белкового, небелкового азота путем экспресс сжигания и количественного фотометрирования после реакции с реактивом Несслера [6], свободные аминокислоты—реакцией с нингидрином [1]. Растворимые сахара определяли микрометодом Хагедорн-Нессена [2], водорастворимую фракцию дубильных веществ—реакцией с вольфраматом натрия [3], общую окисляемость тканей—титрацией раствором калий перманганата, активность ферментов пероксидазы и полифенолоксидазы—фотометрически по окислению пирогаллола.

Результаты и обсуждения. Как показали наши исследования, гибриды с устойчивостью 1 балл (1916/2, 1916/11, 1918/3, 1925/2) и 2 балла (1916/3, 1916/9, 1915/1, 1918/4) отличаются сравнительно высоким содержанием общего и белкового азота. Так, например, количество общего азота у этих гибридов составляет 16—20, в то время как у неустойчивых форм 1916/1, 1916/7, 1918/1, 1925/19 (4—5 баллов)—12—15 мг/г. Белковый азот у устойчивых гибридов составляет 13—17, неустойчивых—9—12 мг/г.

В пределах одной и той же комбинации у сеянцев с различной устойчивостью содержание форм азота имеет широкий предел варьирования. Так, в комбинации 1925 выявлены гибриды, резко различающиеся как по степени устойчивости к милдью (1925/2—1, 1925/19—5 баллов), так и по содержанию общего и белкового азота (соответственно 20,0 и 16,7 мг/г; 12,5 и 9,5 мг/г).

В инфицированных листьях изучаемых растений по сравнению с их контролем наблюдается снижение количества свободных аминокислот (табл. 1). У гибридов, обладающих высокой устойчивостью к милдью (2 балла), на 5-й день заражения по сравнению с неустойчивыми формами и сортами содержание свободных аминокислот понижается значительно сильнее.

В полевых условиях резкое снижение количества свободных аминокислот в листьях устойчивых гибридов растения-хозяина, возможно, является одним из биохимических факторов, ограничивающих рост и развитие гриба в тканях.

Исследования показывают, что в процессе инкубации милдью у сортов и гибридов с разной устойчивостью имеет место как повышение, так и снижение концентрации моносахаридов (табл. 2). Изменений не наблюдается только у устойчивого гибрида 1661/75.

У устойчивых форм концентрация сахарозы в зараженных листьях уменьшается на 1,5—3,1, а у неустойчивых, наоборот, повышается на

Таблица 1

Изменение содержания свободных аминокислот в листьях винограда на 5-й день заражения, мг% на сух. в-во

Сорта и гибриды	Здоровые листья (контроль)		Зараженные листья (опыт)		Убыль содержания аминокислот в зараженных листьях по сравнению с контролем
	здоровые	заражен-ные	здоровые	заражен-ные	
Милдьюустойчивость 2 балла					
Кармрени (1507/15а)	450,0	285,0	285,0	165,0	165,0
Неркарат (1661/52)	427,5	324,0	324,0	103,5	103,5
Мерцаван (1661/75)	438,0	315,0	315,0	123,0	123,0
Милдьюустойчивость 4—5 баллов					
Саперави	415,5	412,0	412,0	13,5	13,5
Кахет	474,0	420,0	420,0	54,0	54,0
Бурмук	465,0	427,5	427,5	37,5	37,5
1812/3	487,5	457,5	457,5	30,0	30,0
1811/29	414,0	363,0	363,0	51,0	51,0
1809/19	502,5	438,0	438,0	64,5	64,5

Таблица 2

Изменение содержания сахаров в листьях винограда на 5-й день заражения, % на сух. в-во

Сорта и гибриды	Моносахара		Сахароза		Разность содержания сахарозы в зараженных листьях по сравнению с контролем
	здоровые листья (контроль)	заражен-ные листья (опыт)	здоровые листья (контроль)	заражен-ные листья (опыт)	
Милдьюустойчивость 2 балла					
Кармрени (1507/15а)	4,35	6,30	3,65	1,45	<2,20
Неркарат (1661/52)	7,45	7,90	3,30	0,20	<3,10
Мерцаван (1661/75)	7,10	7,10	2,30	0,80	<1,50
1810/6	7,10	6,20	2,70	0,90	<1,80
Милдьюустойчивость 4—5 баллов					
Саперави	6,10	5,25	1,55	2,75	>1,20
Кахет	7,55	7,90	2,40	2,65	>0,25
Бурмук	7,10	5,15	0,80	2,05	>1,25
1812/31	7,00	8,65	0,45	1,05	>0,60
1809/19	7,55	8,80	0,45	1,00	>0,55

0,95—1,25%. Таким образом, у устойчивых форм в процессе инкубации гриба количество израсходованной сахарозы не восполняется, у неустойчивых — концентрация сахарозы возрастает, способствуя дальнейшему развитию гриба.

Важную роль в защитных реакциях организма играют фенольные соединения.

Исследования показали, что здоровые листья милдьюустойчивых форм винограда сравнительно богаты дубильными веществами (табл. 3). В процессе инфицирования (на 5-й день заражения) в листьях устойчивых гибридов количество дубильных веществ повышается, а в группе неустойчивых сортов снижается на 10—25%.

Изменение содержания дубильных веществ в листьях винограда
на 5-й день заражения, мг% на сух. в-во

Сорта и гибриды	Здоровые листья (контроль)	Зараженные листья (опыт)	% к контролю
Милдьюустойчивость 2 балла			
Кармрени (1507/15a)	618	726	117,5
Неркарат (1661/52)	670	693	103,4
Мерцаван (1661/75)	693	723	104,0
1810/6	640	715	111,7
Милдьюустойчивость 4—5 баллов			
Кахет	551	490	88,9
Саперави	540	465	86,1
1809/19	551	497	90,2
1812/82	435	325	74,9

Известно, что фенолы растения-хозяина могут непосредственно обезвреживать токсины и инактивировать ферменты паразита путем их окисления. Сами полифенолы обладают невысокой фунгитоксичностью, которая сильно возрастает в ходе их ферментативного окисления. Следовательно, важная роль в фитоиммунитете принадлежит не столько самим полифенолам, сколько системе полифенол-о-дифенолоксидаза (ПФО).

Согласно полученным нами данным, в условиях полевого заражения у милдьюустойчивых гибридов 1661/52, 1661/75 в процессе инкубации гриба активность ПФО повышается заметно (160—167%), а у неустойчивых гибридов 1812/82 и 1809/19—в меньшей степени (111—116%). Однако не всегда устойчивость к инфекции сопровождается накоплением полифенолов и возрастанием активности ПФО. Например, у высокоустойчивых гибридов 1507/15a и 1810/6 при заражении наблюдается подавление активности ПФО на 14—18%, а у неустойчивого гибрида 1812/31 и сорта Бурмунк — сильная активация (на 100—117%).

Ингибирующее действие фенолов на энзиматические системы широко известно. Это объясняется способностью фенолов конденсироваться с белками. Активное участие фенолов и ПФО в осуществлении ряда защитных реакций не подлежит сомнению.

Как указывают Рубин и др. [8], угнетение и гибель патогенных организмов могут быть обусловлены разобщающим действием фенолов и продуктов окисления на окислительное фосфорилирование, денатурацией белков и ферментов, связыванием кофакторов ферментов паразита, конкуренцией с ними за кислород, нарушением проницаемости клеточной оболочки, образованием механических и химических барьеров, препятствующих дальнейшему развитию паразита и т. д. Множественность и многогранность этих взаимосвязанных и взаимообусловленных процессов требует для установления корреляции между комплексоустой-

чивостью винограда и системой полифенол—полифенолоксидаза проведения специальных модельных опытов.

Достаточно четкая группировка гибридов получается при определении общей окисляемости тканей листьев титрацией раствором калий перманганата.

Таблица 4
Изменение общей окисляемости тканей листьев винограда на 5-й день заражения, мл 0,1 н раствора калий перманганата на 1 г сух. в-ва

Сорта и гибриды	Здоровые листья (контроль)	Зараженные листья (опыт)	Разность, мл калий перманганата
Милдьюустойчивость 2 балла			
1507/15a	17,75	15,00	<2,75
1661/52	17,00	14,75	<2,25
1661/75	18,50	14,00	<4,50
1810/6	16,00	14,25	<1,75
Милдьюустойчивость 4—5 баллов			
1809/19	10,75	13,75	>3,00
1812/82	10,95	11,50	>0,65
Кахет	8,75	8,75	0
Адиси	11,00	11,00	0

Данные табл. 4 показывают, что в полевых условиях контрольные растения милдьюустойчивых форм отличаются от таковых неустойчивых сортов и гибридов высокой окисляемостью листьев (16—18,5 против 9—11 мл). В процессе инкубации паразита окисляемость тканей листьев у устойчивых гибридов уменьшается, а у неустойчивых—повышается. У сортов Адиси и Кахет заражение не привело к изменению окисляемости тканей листьев.

Таким образом, группа милдьюустойчивых гибридов различных комбинаций отличается от неустойчивых сравнительно высоким содержанием общего, белкового азота, повышенной окисляемостью тканей листьев и большим содержанием водорастворимых полифенолов. В процессе инкубации паразита в инфицированных листьях в полевых опытах обнаруживаются определенные изменения: количество свободных аминокислот и сахарозы в листьях милдьюустойчивых гибридов снижается, а количество полифенолов повышается. В инфицированных листьях неустойчивых гибридов изменения названных соединений носят противоположный характер: сахароза прибавляется, полифенолы уменьшаются, общая окисляемость тканей листьев возрастает.

Институт виноградарства, виноделия
и плодоводства МСХ АрмССР

Поступило 9. 11 1979 г.

ԽԱՂՈՂԻ ՆՈՐ ՍՈՐՏԵՐԻ ԵՎ ԼԼԻՏԱՅԻՆ ՋԵՎԵՐԻ ՄԻԼԴԻՈՒՅՈՎ
ԱԽՏԱՀԱՐՎԱԾ ՏԵՐԵՎՆԵՐՈՒՄ ՏԵՂԻ ՈՒՆԵՅՈՂ ՆՅՈՒԹԱՓՈԽԱՆԱԿՈՒԹՅՈՒՆԸ

Ս. Ա. ՄԱՐՈՒԹՅԱՆ, Ա. Ս. ԱՆՏՈՆՅԱՆ, Թ. Ա. ԱԲԱԶՅԱՆ, Ժ. Ա. ՊԵՏՐՈՍՅԱՆ,
Ա. Ա. ՄԱՐԳԱՐՅԱՆ, Գ. Լ. ՍՆԽՉՅԱՆ, Լ. Վ. ՂԱԶԱՐՅԱՆ, Ժ. Ա. ՆԱՀԱՊԵՏՅԱՆ

Կենսաքիմիական ուսումնասիրություններից պարզվել է, որ կոմպլեքս-դիմացկուն նոր չիբրիդների տերևներում, ախտահարման պրոցեսում զգալիորեն նվազում է ամինաթթուների, սախարոզայի քանակը, ավելանում է պոլիֆենոլների պարունակությունը, խթանվում է պոլիֆենոլօքսիդազի ակտիվությունը:

METABOLIC CHANGES IN LEAVES OF NEW AND ELITE FORMS
OF GRAPE VINE IN THE MILDEW INFECTION PROCESS

S. A. MARUTIAN, A. S. ANTONIAN, R. A. ABADJIAN, J. A. PETSOSIAN,
A. A. MARGARIAN, G. L. SNKHCHEAN, L. V. KAZARIAN, J. A. NAHAPETIAN

The study has shown that amino-acid and sucrose quantities significantly decrease in the infected leaves of frost hardy hybrids resistant to mildew. Polyphenol content increases and polyphenoloxidase activity is induced. In non-resistant hybrids these changes in the whole have the opposite character.

Л И Т Е Р А Т У Р А

1. Абаджян Р. А. Инструкция по анализу аминокислот и белковых веществ винограда и плодовых растений. Ереван, 1978.
2. Белозерский А. Н., Проскуряков Н. И. Практическое руководство по биохимии растений. М., 1951.
3. Биохимические методы в физиологии растений. М., 1971.
4. Вердеревский Д. Д., Журавель М. С. Тез. докл. IV Всесоюзн. совещ. по иммунитету с.-х. растений. Кишинев, 1965.
5. Зотов В., Гадиев Р. Физиология с.-х. растений. 9, М., 1970.
6. Маргарян А. А. Автореф. канд. дисс., Тбилиси, 1978.
7. Марутян С. А. Биохимические аспекты формирования и диагностики морозоустойчивости виноградного растения. Ереван, 1978.
8. Рубин Б. А., Арциховская Е. В., Аксенова В. А. Биохимия и физиология иммунитета растений. М., 1975.
9. Сб.: Селекция винограда. Ереван, 1974.
10. Сб.: Устойчивость винограда и плодовых культур к заболеваниям и вредителям. Кишинев, 1976.

КРАТКИЕ СООБЩЕНИЯ

УДК 577.1

ДЕЙСТВИЕ ЛЮТЕИНИЗИРУЮЩЕГО РИЛИЗИНГ ГОРМОНА
И ЕГО ФРАГМЕНТОВ НА СОДЕРЖАНИЕ ГЛЮКОЗЫ В КРОВИ
У НОРМАЛЬНЫХ И АЛЛОКСАНДИАБЕТИЧЕСКИХ КРЫС

Н. Г. ХУМАРЯՆ, А. Х. ХАՆԱԶԱԴՅԱՆ, А. А. ГАЛОЯՆ

В литературе имеются единичные указания о непосредственном участии гипоталамических пептидов в регуляции уровня гликемии. Особый интерес в этом аспекте представляют результаты изучения влияния на различные звенья углеводного обмена соматотропин-релиз ингибирующего фактора — соматостатина. В опытах *in vitro* установлено, что соматостатин оказывает прямое ингибирующее действие на секрецию инсулина [8] и глюкагона [5] и β - и α -клетках поджелудочной железы. У наркотизированных обезьян он вызывает значительную гипогликемию, которой предшествует резкое понижение уровня глюкагона и инсулина в плазме крови [6]. Снижение уровня глюкагона и глюкозы в плазме крови наблюдается также при инфузирования соматостатина больным диабетом, нуждающимся в инсулине. Аналогичный эффект соматостатина обнаруживается у гипофизэктомированных больных [7].

Недавно из гипоталамуса крупного рогатого скота был выделен и идентифицирован с фрагментом лютеинизирующего релизинг гормона (ЛРГ) гексапептид [1]. При внутривенном введении его крысам в дозе 1 мкг наблюдалось достоверное снижение содержания глюкозы в крови как у интактных [2], так и у аллоксандиабетических животных [4].

В этой связи представляло интерес выяснение действия на уровень глюкозы также других фрагментов ЛРГ и самого ЛРГ.

Материал и методика. Исследования проводили на наркотизированных нембуталом крысах обоего пола массой 120—150 г, содержащихся на обычном пищевом рационе. В течение 18 час. до опыта животные голодали (им давали только воду). Нембутал вводили внутривенно из расчета 50—60 мг/кг массы животного. Аллоксан (фирмы «Sigma», США), приготовленный на цитратно-фосфатном буфере (рН 4,0) вводили внутривенно в виде 3%-ного раствора после 20-часового голодания из расчета 140 мг/кг массы животного, после чего животным давали подслащенную воду. Опыт проводили через 3 дня после введения аллоксана. Кровь для анализа брали из подключичной вены, затем туда же вводили пептиды в количестве 1 мкг, растворенные в 0,2 мл дистиллированной воды. Через 30 мин после инъекции брали повторную порцию крови. Контрольным животным вводили 0,2 мл дистиллированной воды. О

сдвигах в содержании глюкозы в крови судили по разнице между показателями исходной пробы и пробы, взятой после инъекции пептидов. Использовали ЛРГ и его фрагменты, синтезированные в лаборатории Шалли (США). Содержание глюкозы в крови определяли глюкозооксидазным методом Маркса [9] в модификации Лукомской и Городецкого [3].

Результаты и обсуждение. Исследования свидетельствуют о том, что внутривенное введение крысам ЛРГ и его различных фрагментов в дозе 1 мкг оказывает не одинаковое действие на уровень глюкозы в крови (рис.). Через 30 мин после введения ЛРГ интактным животным при-

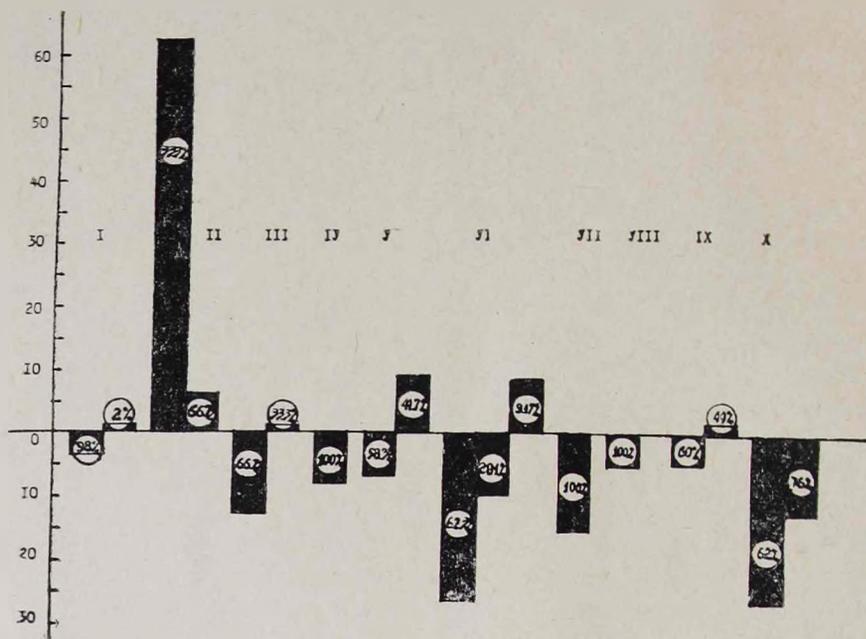


Рис. Сдвиги в содержании глюкозы в крови под действием ЛРГ и его фрагментов у животных с нормальной гликемией и аллоксандиабетических.

I — Контроль

II — ЛРГ (Пиро)-Глю-Гис-Три-Сер-Тир-Гли-Лей-Арг-Про-Гли-NH₂

III — Гис-Три-Сер-Тир-Гли-Лей-Арг-Про-Гли-NH₂

IV — Три-Сер-Тир-Гли-Лей-Арг-Про-Гли-NH₂

V — Сер-Тир-Гли-Лей-Арг-Про-Гли-NH₂

VI — Тир-Гли-Лей-Арг-Про-Гли-NH₂

VII — Лей-Арг-Про-Гли-NH₂

VIII — (пиро)-Глю-Гис

IX — Контроль (аллоксандиабетические животные)

X — Тир-Гли-лей-Арг-Про-Гли-NH₂

Примечания:

1. Сдвиги представлены в процентах от исходных величин.

2. Цифры, обозначенные в кружочках, выражают процент животных от общего числа данной группы (результат 10—17-ти опытов).

мерно у одной трети наблюдалось значительное повышение уровня глюкозы в крови на 23—68 мг% в абсолютных числах и на 33—120% (в среднем 62,1%) от исходных величин, у остальных—повышение его содержания было равно контрольным цифрам. Снижение уровня глюкозы не было отмечено ни в одном опыте.

Иной результат был получен под воздействием гексапептида. Через 30 мин после его введения обнаруживалось достоверное снижение уровня глюкозы как у интактных, так и у аллоксандиабетических крыс.

У большинства нормальных животных (62,0%) оно равнялось 20—37 мг% (в среднем 32 мг% от первоначальных значений), у остальных — сдвиги не выходили за пределы физиологических колебаний.

При аллоксановом диабете снижение уровня глюкозы при введении гексапептида наблюдалось также у двух третей подопытных животных в пределах 24—120 мг% (в среднем 42,2 мг% от исходных значений).

Из приведенных данных видно, что ЛРГ и гексапептид на уровень глюкозы в крови оказывают противоположное действие.

Другие фрагменты ЛРГ, как показали опыты, существенных сдвигов в содержании глюкозы в крови не вызывают, однако небезынтересно отметить, что направленность этих малых сдвигов также была противоположной сдвигам, вызванным ЛРГ.

Выяснение механизма этого явления представляет интерес и нуждается в тщательном изучении. Полученные данные дают основание полагать, что ЛРГ и его фрагментам принадлежит важная роль в регуляции уровня глюкозы в крови, и, следовательно, углеводного обмена в целом.

Более детальное изучение участия ЛРГ и его фрагментов в регуляции уровня гликемии и различных этапов углеводного обмена может иметь существенное значение в выяснении этиопатогенеза, профилактики и лечения ряда эндокринных заболеваний, и в частности, сахарного диабета. Интерес к этим препаратам особенно велик, так как они уже синтезированы. Необходимо также изучение продолжительности действия на уровень гликемии указанных пептидов и тонких механизмов их действия.

Институт биохимии АН АрмССР

Поступило 13. VI 1979 г.

**ԼՌՀ-ի եւ ԵՐԱ ԲԵԿՈՐՆԵՐԻ ԱԶԳԵՑՈՒԹՅՈՒՆԸ ԱՐՅԱՆ ԳԼՅՈՒԿՈՋԱՅԻ
ՄԱԿԱՐԳԱԿԻ ՎՐԱ, ՆՈՐՄԱԼ ԵՎ ԱԼՈՔՍԱՆԱՅԻՆ ԴԻԱԲԵՏ
ՈՒՆԵՑՈՂ ԱՌՆԵՏՆԵՐԻ ՄՈՏ**

Ն. Հ. ԽՈՒՄԱՐՅԱՆ, Ա. Խ. ԽԱՆՍՏԱՆՅԱՆ, Ա. Ա. ԳԱՌՅԱՆ

Հետազոտությունները ցույց տվեցին, որ լուսեինիդացնող սիլիկինգ հորմոնը և նրա բեկորներն արյան գլյուկոզայի մակարդակի վրա միանման ազդեցություն չեն գործում՝ ԼՌՀ-ը բարձրացնում է այն, իսկ հեքսապեպտիդը՝ իջեցնում: ԼՌՀ-ի մյուս բեկորները գլյուկոզայի մակարդակի աննշան տատա-

նումներ են առաջացնում, որոնք ևս ուղղված են դեպի իջեցում: Կարծի է ենթադրել, որ ԼԻՆ-ը մեծ դեր է խաղում արյան գլյուկոզայի մակարդակը և ընդհանրապես ածխաջրածնային նյութափոխանակությանը կանոնավորելու գործում:

Л И Т Е Р А Т У Р А

1. Галоян А. А. Вопросы биохимии мозга. 13, 7. Ереван, 1978.
2. Галоян А. А., Хумарян Н. Г., Ханазадян А. Х. ДАН АрмССР, 65, 5, 5—8, 1977.
3. Лукомская И. С., Городецкий В. К. Биохимия, 26, 3, 477, 1961.
4. Хумарян Н. Г., Ханазадян А. Х., Баев В. В., Галоян А. А. Ж. экспер. и клинич. медицины, 18, 5, 15—24, Ереван, 1978.
5. Gerich J. E., Lorenci M., Schneider V., Kwan C. W., Karam J. H., Guillemin R., Forsham P. H. Diabetes, 23, 876—880, 1974.
6. Guillemin R. Вопросы биохимии мозга, 10, 118—122, 1975.
7. Gerich J. E., Lorenci M., Schneider V., Karam H., Rivier J., Guillemin R., Forsham R. H. J. of Medicine, New England, 201, 544—547, 1 71.
8. Koerker P. T. et all. Science, 184, 482, 1974.
9. Marks V. Clin. chem. acta, 4, 395, 1959.

КРАТКИЕ СООБЩЕНИЯ

УДК 612.111.577.1.877.3

ДЕЙСТВИЕ ГИДРОКОРТИЗОНА НА КИСЛОТНУЮ
РЕЗИСТЕНТНОСТЬ ЭРИТРОЦИТОВ МЫШЕЙ, НЕСУЩИХ
АСЦИТНУЮ КАРЦИНОМУ ЭРЛИХА

А. П. ЗАХАРЯН, Э. А. КАРАГУЛЯН, С. А. ГОНЯН

Как известно, гормоны служат химическими медиаторами, активно действующими на метаболические процессы в тканях и органах живых организмов. По современным представлениям, гормональные нарушения приводят к серьезным патологическим процессам, в том числе к развитию злокачественных опухолей. В связи с этим изучение действия гормонов на организм-опухоленоситель может иметь терапевтическое и диагностическое значение.

В последнее время известно, что регуляция биологических процессов гормонами происходит на мембранном уровне, поэтому исследование взаимодействия гормонов как с искусственными, так и клеточными мембранами представляет большой интерес. В литературе имеются данные о действии стероидных гормонов на мембраны различных клеток [7].

Удобным объектом для данного рода исследований являются эритроциты, которые утратили основные клеточные структуры, но сохранили полноценную мембрану. Кроме того, как известно, они очень чувствительны к патологическим процессам в организме.

Одним из методов исследования мембран эритроцитов является метод кислотной резистентности, предложенный Гительзоном и Терсковым [1].

Ранее нами при исследовании кислотной резистентности эритроцитов мышей, несущих асцитную карциному Эрлиха, было выявлено изменение распределения эритроцитов по их стойкости [2].

В работах Захарян А. П. исследовалось влияние гидрокортизона в опытах *in vivo* и *in vitro* на скорость гемолиза у нормальных животных и было показано, что гидрокортизон, не влияя на общее количество эритроцитов в крови, вызывает их перераспределение по стойкости, увеличивая количество малостойких и соответственно уменьшая количество более стойких эритроцитов [5].

В настоящей работе исследовалось влияние гидрокортизона на кислотную резистентность эритроцитов мышей, несущих асцитную карциному Эрлиха.

Материал и методика. Объектом исследования служили эритроциты белых беспородных мышей, несущих асцитную карциному Эрлиха. Перевивка карциномы производилась восьмидневной опухолью. Мышам вводилось 0,2 мл асцитной жидкости.

Кислотная резистентность эритроцитов определялась в четырех сериях: у здоровых мышей, у здоровых мышей с введением гидрокортизона, с асцитной карциномой Эрлиха, с асцитной карциномой Эрлиха и введением гидрокортизона (фирмы Гедеон Рихтер) в дозе 5 мг на 100 г веса внутримышечно. Забой животных производился через 4 час. после введения гормона.

Кислотная резистентность эритроцитов определялась по методу Гительсона и Терского [1] на 7—8-й день развития опухоли, когда, по литературным [4] и нашим данным [3], наступали наиболее выраженные изменения в организме животных. В качестве гемолитика использовался 0,004 N раствор соляной кислоты.

Результаты опытов статистически обработаны и представлены в виде эритрограмм.

Результаты и обсуждение. Из рис. 1 видно, что максимум эритрограммы у нормальных мышей (кр. 1) отмечается на 4-й минуте гемоллиза и составляет 35%. Продолжительность гемоллиза 8 минут. Введение гидрокортизона смещает максимум эритрограммы (кр. 2) к третьей минуте, повышая его до 45%. Одновременно уменьшается продолжи-

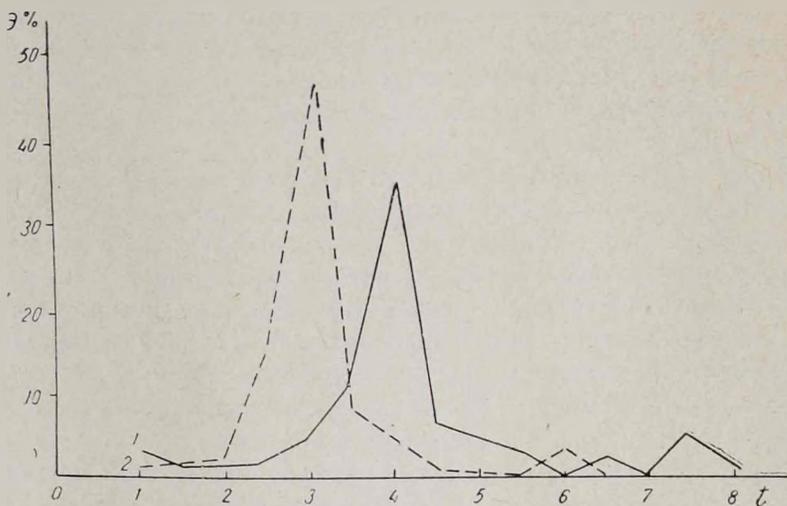


Рис. 1. Эритрограммы здоровых мышей (1) и здоровых мышей, получивших гидрокортизон (2).

тельность гемоллиза. На рис. 2 представлены эритрограммы мышей, несущих асцитную карциному Эрлиха. Из кр. 1 видно, что максимум эритрограммы смещается ко второй минуте и достигает 45%, время гемоллиза сокращается до 6-ти минут. Введение гидрокортизона мышам, несущим карциному Эрлиха (кр. 2), привело к смещению кривой, поднятию правого крыла эритрограммы, снижению максимума и к увеличению времени гемоллиза до 7,5 минут.

Смещение эритрограммы у здоровых мышей, повышение ее пика и снижение правого крыла при введении гидрокортизона свидетельствуют о том, что в крови возрастает процент малостойких эритроцитов.

Поскольку такие изменения происходят в короткий срок (за 4 часа), то приписывать это естественному старению эритроцитов нельзя. Можно предположить, что происходят некоторые изменения структуры мембран эритроцитов, в результате чего уменьшается их стойкость по сравнению с нормальными эритроцитами. Подобная интерпретация не противоречит литературным данным, согласно которым введение гидрокортизона адrenaлэктомированным животным повышает скорость проникновения веществ в эритроциты [6].

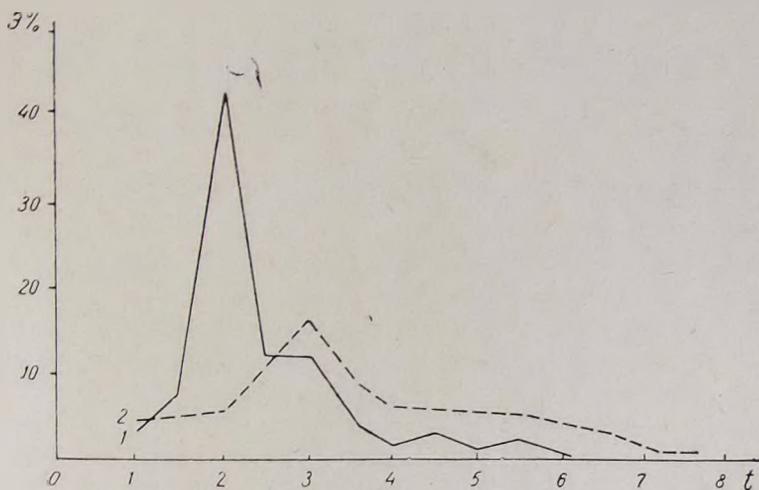


Рис. 2. Эритрограммы мышей, несущих асцитную карциному Эрлиха до (1) и после введения гидрокортизона (2).

При развитии опухоли смещение пика эритрограммы с четвертой минуты ко второй говорит о значительных изменениях в мембранах эритроцитов. Введение гидрокортизона возвращает пик эритрограммы к третьей минуте, при этом резкое снижение его и поднятие правого крыла может быть интерпретировано как увеличение количества более стойких эритроцитов. Сглаженная в этом случае эритрограмма указывает на то, что увеличилась неоднородность эритроцитов по стойкости.

Таким образом, гидрокортизон, сдвигая пик эритрограммы вправо, приближает его к норме, стабилизируя состояние мембран.

Ереванский государственный
университет

Поступило 9. IV 1979 г.

ՀԻԳՐՈԿՈՐՏԻՉՈՆԻ ԱԶԴԵՑՈՒԹՅՈՒՆԸ ԷՐԼԻԽԻ ԿԱՐՑԻՆՈՄԱՅՈՎ
ՎԱՐԱԿՎԱԾ ՄԿՆԵՐԻ ԷՐԻՏՐՈՑԻՏՆԵՐԻ ԹԹՎԱՅԻՆ ԿԱՅՈՒՆՈՒԹՅԱՆ ՎՐԱ

Ա. Պ. ԶՍԻԱՐՅԱՆ, Է. Ա. ԿԱՐԱԳՈՒԿՅԱՆ, Ս. Ա. ՂՈՆՅԱՆ

Ըստ ամսագրի վեկ է հիգրոկորտիզոնի ազդեցությունը էրլիխի ասցիտա-
յին կարցինոմայով վարակված մկների էրիտրոցիտների թթվային կայունու-
թյան վրա:

Պարզվել է, որ հիդրոկորտիզոնը երկարացնում է էրիտրոցիտների ժամանակը, մեծացնում էրիտրոցիտների տարասեռությունն ըստ կայունության. էրիտրոգրամի մաքսիմումը տեղաշարժվում է դեպի աջ՝ մոտեցնելով նրան նորմալի և ցուցաբերելով կայունացնող ազդեցություն:

Л И Т Е Р А Т У Р А

1. Гительзон И. И., Терсков И. А. Эритрограммы как метод исследования крови. Красноярск. 1959.
2. Гонян С. А., Карагулян Э. А. Уч. зап. ЕГУ, 2, 104, 1975.
3. Гонян С. А., Карагулян Э. А., Пиносян Г. А. Биолог. ж. Армении, 31, 4, 413, 1978.
4. Ефимов Г. С., Дегтярева-Васильева С. А. Вопр. онкологии, 15, 1, 54, 1969.
5. Захарян А. П. Межвузовск. сб. научн. тр., Ереван. 1979.
6. Ольшанская В. А., Тоцкий В. Н., Андриевский А. Н. Пробл. эндокринологии, 23, 2, 103, 1977.
7. Graham J. M., Green C. Biochem. Pharmacoloji. 18, 493, 1969.

Аглюконы, полученные в результате гидролиза глюкозидов, обнаруженные в красных винах, по данным Волуйко (2), обладают Р-витаминной активностью и способны нормализовать проницаемость кровеносных сосудов.

Таблица

Содержание витамина Р (рутина) в хересе

Образцы	мг/л	% к исходному
Исходный материал (контроль)*	0,46	100,0
Пленкованное вино из I-го резерва на штамме X-14	0,54	118,0
То же, из I резерва	0,55	120,8
Пленкованное вино из I-го резерва на штамме X-96К	0,53	115,2
То же, из II резерва	0,56	120,8
То же, из III резерва	0,58	126,1
Бюракан, херес столовый	0,54	118,0
Аштарак, херес крепкий	0,59	128,3

*) Контроль принят за 100%.

Резервы: 1—6 месяцев выдержки под пленкой.

2—6 месяцев выдержки после I резерва.

3—6 месяцев выдержки после II резерва.

Согласно данным таблицы, в винах под хересной пленкой, по сравнению с контролем, содержание витамина Р высокое. Так, например, если в контрольном образце оно равнялось 0,46, то в I резерве (штамм X-96К)—0,53 мг, во II (штамм X-104) и на пленке штамма X-96К—0,56 мг.

В готовых хересах Бюракан содержание витамина Р—0,54, в марочном Аштараке—0,59 мг/л.

Полученные данные свидетельствуют о пищевой ценности вина типа херес, который помимо витаминов группы В содержит также витамин Р.

Институт виноградарства, виноделия
и плодоводства МСХ АрмССР

Поступило 9.11.1979 г.

ՐԻՄԲԻ ՎԻՏԱՄԻՆԻ ԱՌԿԱՅՈՒԹՅՈՒՆԸ
ԽԵՐԵՍԻ ՏԻՊԻ ԳԻՆԻՆԵՐՈՒՄ

Ե. Ս. ՇՈՒՆՆՅԱՆ

Մենք առաջին անգամ խերեսի տիպի գինիներում, քիմիական եղանակով, որոշել ենք վիտամին P-ի առկայությունը: Այդ տվյալները հաստատում են, որ բացի B խմբին պատկանող վիտամիններից խերեսի տիպի գինիները պարունակում են նաև վիտամին P, որն ավելի է բարձրացնում այդ գինիների կենսաբանական արժեքը:

ЛИТЕРАТУРА

1. Березова Г. Т. Руководство к лабораторным занятиям по биологической химии. М., 1976.
2. Волыко Г. Г. Биохимия и технология красных вин. М., 1973.
3. Дурмишидзе С. В. Дубильные вещества и антоцианы виноградной лозы и вина. 1955.
4. Мару А. Т., Цвиллинг А. Я. Садоводство, виноградарство и виноделие Молдавии, 5, 1956.
5. Скарборо Г., Бахерах А. Д. Биохимия и физиология витаминов, вып. 2, 1950.
6. Hall A. P., Brinner I., Amerine M. A., Morgan A. F. Food Research, 21, 3, 362, 1956.
7. Hennig K. Dtsch Wein-Zeitg Bd., 94, 25, 448, 1958.
8. Zovollay, Sevestre Y. Camp. rend agr. France, 30, 1944.

ՕՃԱԳԱԼԱՐԻ ԼԵՂԱՄՈՒՂ ՀԱՏԿՈՒԹՅԱՆ ՄԱՍԻՆ

Ա. Ա. ԹՈՐՈՍՅԱՆ

Օձագալարը հնդկացորենազգիների ընտանիքից բազմամյա խոտաբույս է՝ 30—100 սմ բարձրությամբ, օձաձև պարուրված արմատով, երկար, նշտարաձև տերևներով, բաց յասամանագույն ծաղիկներով: Մեր հանրապետությունում հանդիպում է այլյան և ենթալյան գոտիներում, ծովի մակերևույթից 1500—3500 մ բարձրության վրա, բազմաթիվ տեսակներով, սրոնցից մենք կլինիկական հետազոտության ենթ ենթարկել *Polygonum carneum* C. Koch-ը, որը հայտնի է մանդիկ, օձտակ, ըստ Ամիրզովլաթ Ամասիացու՝ նաև հովվի բիր և բրսի անդրու անուններով:

Բույսի արմատը և կոճղարմատը պարունակում են 25% դաբաղանյութեր, 0,44% գալաթթու, 0,5% կատեխին, 26,5% օսլա, օքսիմեթիլենտրալսինոն, թրթնջկաթվական կալցիում, ասկորբինաթթու, կարոտին և այլն [3, 4, 8]: Ամիրզովլաթը օձագալարի արմատը, որպես ուժեղ մածող միջոց, կիրառել է բոլոր տեսակի արյունահոսությունների, լուծերի, արգանդի, միջին ականջի և այլ օրգանների թարախային արտադրությունների և բորբոքային ուռուցքների ժամանակ [1]: Այն փորձառական պայմաններում կիրառվել է Ս. Հ. Միրզոյանի և նրա աշխատակիցների կողմից՝ բերանի լորձաթաղանթի վրա, առողջ և ստամոտիտով հիվանդ անձանց մոտ: Վերջիններս պարզել են, որ օձագալարի սպառող և հակաբորբոքիչ հատկությունները անհամեմատ ուժեղ են նույն նպատակով կիրառվող ռատանիայի ազդեցությունից [6]: Բազմաթիվ կլինիկական հետազոտություններ [2, 5, 8] հիմնավորել են օձագալարի եփուկի կամ ջրիկ մզվածքի արդյունավետ ներգործությունը բերանի խոռոչի լորձաթաղանթի բորբոքումների և աղիների սուր և խրոնիկական ախտահարումների ժամանակ: Ժողովրդական բժշկության մեջ արմատը կիրառվում է միզուղիների և լեղուղիների քարային հիվանդության, կուպիտների, վագինիտների, ստամոքսաաղիքային տրակտի արյունահոսությունների ժամանակ [2, 7]:

Օձագալարի 10,0—200, 0 գ եփուկը, ներքին ընդունման ձևով այլ նույնատակներով կիրառելիս մեզ հաջողվեց ի հայտ բերել դեղաբույսի բուլբուլին մի նոր հատկանիշ՝ կապված նրա լեղամուղ հատկության հետ: Ի դեպ, մեզ մատչելի դրականության մեջ օձագալարի այս հատկության մասին որևէ տեղեկություն չկա, ուստի և բազմաթիվ հիվանդներից ստացված տվյալները մենք հարկ համարեցինք շարադրել այս հոդվածում:

Լաբորատոր պրակտիկայում դուրսենածի համար լայնորեն կիրառվում են «Լեղապարկի ռեֆլեքս» (Մեյցեր-Լայոնի փորձը) առաջացնող բազմաթիվ

միջոցներ, այդ թվում՝ մազնեղիում սուլֆատ, ձիթապտղի լուղ, պեպտոն, պիտուիտրին, հիստամին և այլն: Օձագալարի արմատի լեղամուղ հատկութունը, նրա արդյունավետության աստիճանը որոշելու նպատակով ստացված տվյալները համեմատել ենք դուոդենաժի պրակտիկայում մեծ տարածում գտած մազնեղիում սուլֆատի ցուցանիշների հետ: Այսպես՝ հեպատոբիլիար պաթոլոգիայով տառապող 34 հիվանդի մոտ, կատարելով բազմակի դուոդենոսոփ, հնարավորություն ենք ունեցել «լեղապարկի ռեֆլեքս» ստանալու համար մի դեպքում կիրառել մազնեղիում սուլֆատ (25% -անոց, 50 մլ, 38°), հաջորդ դեպքում՝ օձագալարի արմատի եփուկ (5% -անոց. 50 մլ, 38°):

Ստացված արդյունքները ցույց տվեցին, որ օձագալարի արմատի եփուկը օժտված է առավել լեղամուղ հատկութվամբ մազնեղիում սուլֆատի համեմատությամբ: Այսպես, եթե մազնեղիում սուլֆատի կիրառման դեպքում «լեղապարկի ռեֆլեքս» 34 հիվանդներից շի ստացվել 10 հոգու մոտ, ապա օձագալարի արմատի եփուկի կիրառման հետևանքով, նույն քանակութվան հիվանդներից «լեղապարկի ռեֆլեքս» շի ստացվել միայն 3 հոգու մոտ, որոնցից 2-ը ունեցել են լեղածորանի օբստրուկցիա՝ լեղաքարային հիվանդութվան հոդի վրա: Օձագալարի արմատի եփուկից ստացված լեղամուղ արդյունքը բնորոշ է նաև լեղապարկից արտազատվող լեղու առավել քանակութվ, թանձրութվամբ, բարձր տեսակարար կշռով և շոր մնացորդով: Օձագալարի եփուկը հիվանդները տարել են լավ: Մեր կարծիքով, դեղաբույսի լեղամուղ արդյունքը պայմանավորվում է ոչ միայն 12-մատնյա աղու լորձաթաղանթից դեպի լեղապարկ գնացող ռեֆլեքսներով և Օդդիի սֆինկտրի թուլացմամբ, այլև բարակ աղիների վերին հատվածներում խոլեցիստոկինինի առաջացումով, որը, ինչպես հայտնի է, ներդատվելով արյան մեջ, ոչ միայն կծկում է լեղապարկը, այլև դյուրացնում է լեղու արտահոսքը:

Բացի լաբորատոր նպատակներից, օձագալարի արմատի եփուկը (5% -անոց, մեկական ճաշի գգալ, օրական 3 անգամ, ուտելուց առաջ) կիրառել ենք նաև բուժման նպատակով, լեղապարկի հիպոկինետիկ դիսկինեզիաների ժամանակ, դյուրածների ձևով: Ուշագրավ է այն հանգամանքը, որ զեղամիջոցն ընդունելուց 0,5—1 ժամ հետո, արտահայտված շափերով թուլացել են աչ թուլակողի շրջանի ցավերը, նկատվել է լեղապարկի հատվածի ճնշման և ծանրութվան վերացում: Այս բոլորը վկայել են լեղապարկի տոնուսի բարձրացման և լեղականգի վերացման մասին:

Գիլիջան, քաղաքային հիվանդանոց

Ստացված է 20.III 1979 թ.

О ЖЕЛЧЕГОННОМ СВОЙСТВЕ ЗМЕЕВИКА

А. А. ТОРОСЯН

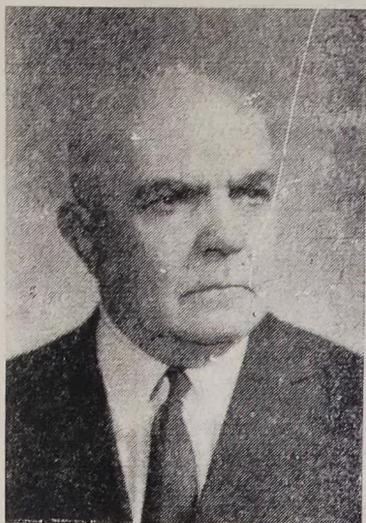
Отвар корня змеевика (*Polygonum carneum* С. Koch) в дозе 5%—50 мл обладает выраженным желчегонным свойством, вызывая сокращение желчного пузыря и расслабление сфинктора Одди. Желчегонный эффект змеевика несколько сильнее действия сульфата магния.

Отвар корня змеевика можно успешно применять не только с целью дуоденажа при вызывании «пузырного рефлекса», но также при лечении гепатобилиарной патологии с дискинезией желчного пузыря.

1. Ամիրզյան Ամիրջյան. Անգիտաց անպես կամ Բառարան բժշկական նյութեր. Վրենսկ., 1926.
2. Губанов И. А., Крылова И. Л., Тихонова В. Л. Дикорастущие полезные растения СССР, М., 1976.
3. Золотницкая С. Я. Лекарственные ресурсы флоры Армении. Ереван, 1, 1958.
4. Мацку Я., Крейча И. Атлас лекарственных растений. Братислава, 1970.
5. Машковский М. Д. Лекарственные средства. 1. М., 1972.
6. Мирзоян С. А., Бабасян О. В., Овян Е. М. Лекарственные растения Армении и их лечебные препараты. Ереван, 1949.
7. Носаль М. А., Носаль И. М. Лекарственные растения и способы их применения в народе. Киев. 1958.
8. Турова А. Д. Лекарственные растения СССР и их применение. М., 1974.

ЭДУАРД АМБАРЦУМОВИЧ ДАВТЯН

Биологическая общественность Армении понесла большую утрату. Скончался один из ведущих и оригинальных исследователей в области экспериментальной гельминтологии, широко известный как в СССР, так и за его пределами, заслуженный деятель науки Армянской ССР, член-корреспондент Академии наук Армянской ССР, доктор биологических наук, профессор Эдуард Амбарцумович Давтян.



Э. А. Давтян родился 12 августа 1903 года в Карсе (Турецкая Армения) в семье служащего. В 1923 году он окончил Харьковский ветеринарный институт и был направлен на работу в Армению, в Противочумную станцию Народного комиссариата земледелия республики, вскоре преобразованную в Армянский научно-исследовательский ветеринарный институт, сначала ассистентом гельминтологического отдела, а с 1933 года — заведующим этим отделом.

С 1943 года Э. А. Давтян возглавлял в Институте зоологии АН АрмССР сектор паразитологии, которым руководил до выхода на пенсию в 1975 году. С 1946 по 1964 год он заведовал также кафедрой паразитологии в Ереванском зоотехническо-ветеринарном институте. В начальный период своей научной деятельности Э. А. Давтян изучал гель-

минтофауну сельскохозяйственных и диких животных Армении и циклы развития тех гельминтов, которые наносили наибольший вред животноводству республики, разрабатывал и внедрял мероприятия по борьбе с гельминтозами. За эти работы в 1940 году он был удостоен звания заслуженного деятеля науки Армянской ССР. Часть этих исследований, а именно циклы развития леточных биогельминтов овец и коз Армении, составила содержание его диссертации на степень доктора биологических наук, защищенной им в Московской ветеринарной академии в 1945 году.

Работая над конкретными вопросами, выдвигаемыми практикой, Э. А. Давтян всегда стремился теоретически осмыслить результаты своих исследований, найти им место в большой науке. В докторской диссертации он предложил общепринятую сейчас классификацию промежуточных хозяев гельминтов по степени их способности к паразитизму. С 1942 года Э. А. Давтян начал работать одновременно над некоторыми вопросами общей теории гельминтозов. Вместе с профессором Р. С. Шульцем, он экспериментально и теоретически разрабатывал проблему иммунитета при гельминтозах. Им был сделан ряд обобщений, который вошел в общую теорию паразитологии.

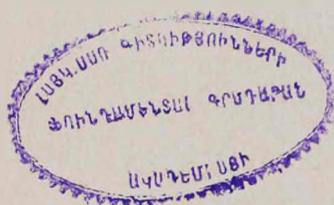
С 1960 года Э. А. Давтян занялся вопросами теории патогенеза гельминтозов. Анализируя собственные экспериментальные данные и данные литературы, он сформулировал некоторые фундаментальные закономерности этого процесса. Им было показано, что в патогенезе гельминтозов доминирующую роль играют не те или иные специфические особенности данного вида гельминта, но общие, неспецифические реакции организма хозяина, большинство которых носит универсальный защитно-приспособительный характер. Важное значение при этом имеет нарушение окислительно-восстановительных процессов, связанное с возникновением дефицита некоторых витаминов и микроэлементов, в частности меди и йода, а также с нарушением нормального соотношения между ними. Далее были экспериментально показаны возможности целенаправленного восстановления нарушенных систем внутренней регуляции организма хозяина введением в рацион животных некоторых микроэлементов в определенных пропорциях. Так были открыты новые возможности патогенетической терапии гельминтозов. Поддержание в организме нормального баланса микроэлементов в то время, когда животные находятся в условиях контакта с патогеном (например, на пастбище), оказалось также надежным средством профилактики. Э. А. Давтян видел в этих исследованиях новое серьезное средство для оздоровления сельскохозяйственных животных от гельминтозов, стремился широко их пропагандировать.

Э. А. Давтян оставил после себя многочисленных учеников. К ним относятся большинство ветеринарных врачей республики, а также почти все научные работники Армении в области общей и ветеринарной гельминтологии. Под его руководством и при его консультациях выполнено более 20 кандидатских и 4 докторские диссертации. Он вел также

значительную научно-организационную работу в Академии наук Армянской ССР и в Гельминтологическом обществе Армении. За успешную научную и общественную деятельность он был награжден орденами Трудового Красного Знамени и Знак Почета, а также рядом медалей.

В памяти его учеников, коллег и всех, кто его знал, он навсегда останется как исключительно трудолюбивый и скрупулезно точный, скромный, честный, принципиальный, верный своему долгу ученый и гражданин.

Н. Н. АКРАМОВСКИЙ



AM 407

ՀԱՅԿԱԿԱՆ ՍՕՀ ԳԻՏՈՒԹՅՈՒՆՆԵՐԻ ԱԿԱԴԵՄԻԱ

ՀԱՅԱՍՏԱՆԻ ԿՆՆՍԱՐԱՆԱԿԱՆ ՀԱՆԴԵՍ

Հիմնադրվել է 1946 թ.

Հրատարակվում է տարեկան 12 անգամ

Հատոր XXXII, № 8

ԵՐԵՎԱՆ

Օգոստոս, 1979

Բ Ո Վ Ա Ն Գ Ա Կ Ո Ւ Թ Յ Ո Ւ Ն

Փորձառական

Հարությունյան Ա. Վ., Գալոյան Է. Ա., Կեղիշյան Գ. Պ., Հովհաննիսյան Վ. Ս. Թիրեոզի հորմոնների մասնակցությունը մկանային հյուսվածքի ԱՄՅ-դեզամինազային ակտիվության կարգավորմանը 715

Մաչքազրեկյան Ռ. Ռ., Սուխայան Բ. Ս., Արզանունց Է. Մ. Օկտահիդրոնաֆոտոսպեկտրների ազդեցությունը մոնոամինոքսիդազային ակտիվության և սերոտոնինի ու նորադրենալինի պատուակության վրա առնետների ուղեղում 723

Պոլունսկայա Գ. Լ., Վարենկո Ս. Պ. Լյարդի հեքսոկինազային ակտիվության և մազնեզիումի ու մանգանի քանակների փոխհարաբերության մեջ կորստիկոստերոիդ հորմոնների մասնակցության մասին 729

Հովհաննիսյան Ա. Ի., Հակոբյան Թ. Ն., Գևորգյան Գ. Ա., Գալոյան Ա. Ա. Առնետի ուղեղի լուծելի սպիտակուցների բայթայումը կատակալին D-ի ազդեցության ներքո 735

Հարությունյան Լ. Ս. Մանգանի իոնների ազդեցությունը առնետների ուղեղի արգինազային ակտիվության վրա ցրտի նկատմամբ վարժեցման պրոցեսի ընթացքում 741

Պոմելյով Ա. Ն., Շատալով Վ. Ն. Կոմպենսատորահարմարողական պրոցեսները ստամոքսում ախտաբանորեն փոփոխված ենթաստամոքսազեղծի լրիվ հեռացումից հետո 748

Գավիրյան Գ. Բ. Ներվային իմպուլսի հաղորդման մեխանիզմի մասին 755

Լիբերման Ն. Ա., Խաչատրյան Գ. Ի., Յոֆինա Լ. Մ. Սրտի միտոքոնդրիանների և սուրմիտոքոնդրիալ մասնիկների կրեատինֆոսֆոկինազան և թափանցող իոնների մեթոդը 763

Գամբարով Ս. Ս. Լիմֆոտիկ հանգույցների բջիջների հակասուպրեսիվ ակտիվությունը 771

Ղազարյան Ռ. Ռ., Գավրյան Մ. Ա. Առնետների լյարդի բրոմատինի հետազոտությունը բարձր սպիտակուցային և սպիտակուցազրկված դիետային պայմաններում 775

Վարդանյան Վ. Հ., Ռափյան Յ. Ա., Ճինգուզյան Ա. Կ., Տոնոյան Գ. Ա., Ասրյան Ն. Վ., Պլուզյան Մ. Ա. էրիտրոցիտների նստեցման սեակցիայի վրա մազնիսական դաշտի ազդեցության հարցի մասին 782

Միրզոյան Վ. Ս. Գորտի աչքի էլեկտրացանցազրի զարգացման առանձնահատկություններն ու դինամիկան կամեոստամոքսոզային շրջանի օնտոգենեզում 786

Մանրաչյան Է. Ա. Պրոլիոքսիդազային կարգավորումը Saccharomyces vini խմորասնկերի մոտ 797

Մարտիրյան Ս. Ս., Անտոնյան Ա. Ս., Աբաջյան Ռ. Ա., Պետրոսյան Փ. Ա., Մարգարյան Ա. Ա., Սեխչյան Գ. Լ., Ղազարյան Լ. Վ., Նահապետյան Փ. Ա. Խաղողի նոր սորտերի և էլիտային ձևերի միլիդիուով ախտահարված տերևներում տեղի ունեցող նյութափոխանակությունը 801

Համառոտ հազորդումներ

Խումարյան Ն. Հ., Խանազադյան Ա. Խ., Գալոյան Ա. Ա. Լիճ-ի և նրա բեկորների ազդեցությունը արյան գլյուկոզային մակարդակի վրա, նորմալ և ալոբումային դիաբետ ունեցող առնետների մոտ 807

Ջախարյան Ա. Պ., Կարազոյյան Է. Ա., Ղոնյան Ս. Ա. Հիդրոկորտիկոնի ազդեցությունը էրլիխի կարցինոմայով վարակված մկների էրիտրոցիտների թիվային կայունության վրա 811

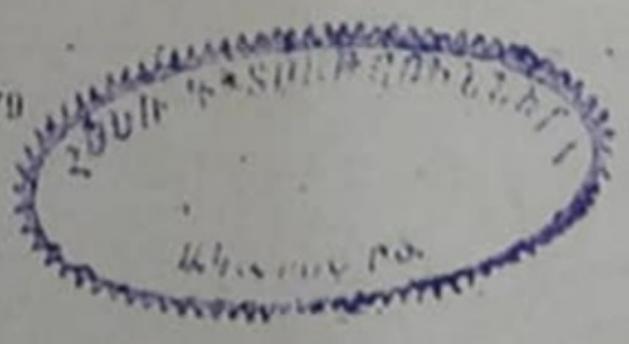
Հունանյան Ն. Ս. P-խմբի վիտամինի առկայությունը խերեսի տիպի գինիներում 815

Թորոսյան Ա. Ա. Սձագալարի լեղամուղ հատկության մասին 815

Գիտություն կորուստներ

Էլյուարդ Համբարձումի Գավթյան 821

Հայաստանի կենսաբանական հանդես, 1979 711



СОДЕРЖАНИЕ

Экспериментальные

- Арутюнян А. В., Гулян Э. А., Кегишян Г. П., Оганесян В. С.* Участие тиреоидных гормонов в регуляции АМФ-дезаминазной активности мышечной ткани 715
- Сафразбекян Р. Р., Сукасян Р. С., Арзануни Э. М.* Влияние октагидронафтоазепинов на активность моноаминоксидазы и содержание серотонина и норадреналина в мозге крыс 723
- Полонская Г. Л., Власенко С. П.* Кортикостероидные гормоны и взаимоотношения между активностью гексокиназы и содержанием магния и марганца в печени 729
- Оганесян А. И., Акоян Т. Н., Геворкян Г. А., Галоян А. А.* Распад растворимых белков мозга крыс под действием катепсина D 735
- Арутюнян Л. С.* Влияние ионов марганца на активность аргиназы мозга в ходе акклиматизации крыс к холоду 741
- Помельцов А. Н., Шаталов В. И.* Компенсаторно-приспособительные процессы в желудке после тотальной резекции патологически измененной поджелудочной железы 748
- Давидян Д. Б.* К механизму проведения нервного импульса 755
- Либерман Е. А., Хачатрян Г. И., Цофина Л. М.* Креатинфосфокиназа сердечных митохондрий и субмитохондриальных частиц и метод проникающих ионов 763
- Гамбаров С. С.* Констрасупрессорная активность клеток лимфатических узлов 771
- Казарян Р. Р., Давтян М. А.* Исследование хроматина печени крыс при высокобелковой и безбелковой диете 775
- Варданян В. А., Рапян Ю. А., Джингозян А. К., Тоноян Г. А., Асрян Н. В., Плузян М. А.* К вопросу о влиянии магнитных полей на реакцию оседания эритроцитов 782
- Мирзоян В. С.* Особенности и динамика развития ЭРГ лягушек в постметаморфозном онтогенезе 786
- Мантасян Э. А.* Регуляция пролиноксидазы у *Saccharomyces vini* 797
- Марутян С. А., Антонян А. С., Абаджян Р. А., Петросян Ж. А., Маргарян А. А., Сихчян Г. Л., Казарян Л. В., Нагапетян Ж. А.* Обмен веществ в листьях новых сортов и элитных форм винограда в процессе инфицирования милдью 801

Краткие сообщения

- Хумарян Н. Г., Ханазадян А. Х., Гелоян А. А.* Действие лютеинизирующего рилизинг гормона и его фрагментов на содержание глюкозы в крови у нормальных и аллоксандиабетических крыс 807
- Захарян А. П., Карагулян Э. А., Гонян С. А.* Действие гидрокортизона на кислотно-резистентность эритроцитов мышей, несущих асцитную карциному Эрлиха 811
- Унанян Е. С.* О содержании витамина Р в хересе 815
- Торосян А. А.* О желчегонном свойстве эмеевика 818

Потери науки

- Эдуард Амбарцумович Давтян** 821
- «Биологический журнал Армении», 1979 712

ACADEMY OF SCIENCES OF THE ARMENIAN SSR
BIOLOGICAL JOURNAL OF ARMENIA

Founded in 1946

12 issues per year

Vol. XXXII, № 8

YEREVAN

August, 1979

C O N T E N T S

E x p e r i m e n t a l

<i>Haroutunian A. V., Gullian E. A., Kechishian G. P., Oganessian V. S.</i> The role of thyreoid hormones in regulation of skeletal muscle AMP-deaminase activity	715
<i>Safrazbekian P. R., Sukasian R. S., Arzanuntz E. M.</i> Octahydronaphthazepine influence on monoamine oxidase activity and content of serotonin and noradrenaline in rat brain	723
<i>Polonskaja C. L., Vlasenko S. P.</i> On participation of corticosteroid hormones in relationships between hexokinase activity and magnesium and manganese	729
<i>Hovanissyan A. I., Akopyan T. N., Gevorkyan G. A., Galoyan A. A.</i> Dissociation of the rat brain soluble proteins under the action of Cathepsin D in vivo and in vitro	735
<i>Harutunian L. S.</i> The effect of manganese ions on rat brain arginase activity during acclimation to cold	741
<i>Pomeltsov A. N., Shatalov V. N.</i> Compensatory-adaptive processes in stomach after total resection as a result of pancreas pathological changes	748
<i>Davidian D. B.</i> On the mechanism of nerve impulse transmission	755
<i>Lieberman E. A., Khuchatrian G. I., Tsofina L. M.</i> Creatine phosphokinase of heart mitochondria and sub-mitochondrial particles and the method of penetrating ions	763
<i>Gambarov S. S.</i> Countersuppressive activity of lymphatic ganglion cells	771
<i>Kazarian R. R., Davtian M. A.</i> Study of rat liver chromatin under the high-protein and non-protein diet	775
<i>Vartanian V. H., Raplan Y. A., Djingozian A. K., Tonoyan G. A., Asrian N. V., Pluzian M. A.</i> Magnetic field influence on erythrocyte settling reaction	782
<i>Mirzoyan V. S.</i> Peculiarities and dynamics of frog ERG developement at post-metamorphose ontogenesis	786
<i>Mantachian E. A.</i> Prolineoxydase regulation in <i>Saccharomyces ivini</i>	787
<i>Marutian S. A., Antonian A. S., Abadjian R. A., Petrosian J. A., Margarian A. A., Sakhchian G. L., Kazarian L. V., Nahapettian J. A.</i> Metabolic changes in leaves of new and elite forms of grape vine in the mildew infection process	801

Short Communications

<i>Khumaryan N. H., Khanazadyan A. Kh., Galoyan A. A.</i> Effect of the lutelizing hormon realising factor (lrh) and its fragmens on glucose content in normal and alloxandiabetic rat blood	807
<i>Zacharian A. P., Karagulian E. A., Gonjan S. A.</i> Hydrocortison effect on acid resistance of erythrocytes of mice bearing Ehrlich carcinoma	811
<i>Hunanian E. S.</i> On the P-group vitamine (rouline) content in cherry	815
<i>Torosian A. A.</i> On bile-expelling property of polygonium	818

Losses of science

Davtian E. A.	821
--------------------------------	-----